



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Profesional de Medicina Humana**

**“Asociación entre la concentración del antígeno ESAT-6 en orina mediante el uso de nanopartículas de hidrogel y el nivel de CD4 en pacientes con coinfección VIH y tuberculosis”**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Cirujano**

**AUTOR**

**Marinelly Jaye ROCA ZELA**

**ASESOR**

**Dr. Eduardo Rómulo TICONA CHÁVEZ**

**Lima, Perú**

**2020**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Roca M. Asociación entre la concentración del antígeno ESAT-6 en orina mediante el uso de nanopartículas de hidrogel y el nivel de CD4 en pacientes con coinfección VIH y tuberculosis [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Medicina Humana; 2020.

---



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado  
Dirección General de Biblioteca y Publicaciones

Dirección del Sistema de Bibliotecas y Biblioteca Central



## HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

CÓDIGO ORCID DEL ASESOR (dato obligatorio): 0000-0002-6556-1082

DNI DEL AUTOR: **47861398**

GRUPO DE INVESTIGACIÓN: **TROPMAYO**

INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN: **CONCURSO DE DESARROLLO CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO DE CONCYTEC, CONTRATO 120-2016.**

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN. DEBE INCLUIR LOCALIDADES Y/O COORDENADAS GEOGRÁFICAS:

**HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO, CERCADO DE LIMA-LIMA-PERÚ.**

AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ: **2017-2019**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANA**

Siendo las 11:30 horas del día cinco de marzo del año dos mil veinte, en el aula 2-A del Pabellón de Aulas de la Facultad de Medicina, se reunió el Jurado integrado por los doctores: Alejandra Parhuana Bando (Presidente), Juan Antonio Salas López (Miembro), Victor Manuel Chávez Pérez (Miembro) y Eduardo Rómulo Ticona Chávez (Asesor).

Se realizó la exposición de la Tesis titulada **“ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DEL ANTÍGENO ESAT-6 EN ORINA MEDIANTE EL USO DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROGEL Y EL NIVEL DE CD4 EN PACIENTES CON COINFECCIÓN VIH Y TUBERCULOSIS”**, presentado por doña **Marinelly Jaye Roca Zela**, para optar el Título Profesional de Médico Cirujana, habiendo obtenido el calificativo de... Diecinueve ..... ( 19 ).

  
Dra. Alejandra Parhuana Bando  
Presidente

  
Dr. Juan Antonio Salas López  
Miembro

  
Dr. Victor Manuel Chávez Pérez  
Miembro

  
Dr. Eduardo Rómulo Ticona Chávez  
Asesor



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA  
Escuela Profesional de Medicina Humana

  
Dr. HECTOR PEREYRA ZALDIVAR  
Director (e)

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Unidad de Investigación Clínica del Servicio de Enfermedades Infecciosas y Tropicales del Hospital Nacional Dos de Mayo, en especial a los Dres. Eduardo Ticona y Luz Huaroto, por la oportunidad brindada en ser parte del equipo de este proyecto y poder iniciar esta aventura que ha sido la realización de mi tesis. A la Lic. Raquel por ser mi guía en todos los aspectos que implican hacer una investigación, gracias por la paciencia y la disposición para enseñarme en cada paso. A la Lic. Wendy, la Dra. Paola, el Dr. César, la Lic. Verónica y la Sra. Rocío, por hacer de mi estadía en estos 3 años la más agradable, con sus enseñanzas y consejos. Gracias a todos ustedes por su aporte en mi formación personal y profesional. Gracias por esta oportunidad en la que he vivido directamente todo el proceso de investigación y he adquirido esta valiosa formación que enriquece el tipo de profesional que deseo ser.

A los pacientes que participaron en el estudio madre y que brindaron su confianza al momento de ser enrolados. A los estudiantes de Medicina de esta casa de estudios, que también colaboraron con la realización de la investigación principal: promociones egresantes 2019 y 2020 y promoción ingresante 2017.

A mi familia, por su comprensión y apoyo, y a José, mi compañero y soporte en todo este tiempo. Son ustedes los que me han visto dividir mi tiempo entre la carrera, el trabajo y la realización de este proyecto, y son quienes me han animado a seguir adelante hasta culminar esta meta. Este es solo un comienzo de nuevos caminos a donde la investigación y la medicina me guiarán. ¡Gracias por todo!

### **DEDICATORIA**

A mis padres y hermanos, por ser el pilar y motivo para realizar mis metas. A José, por ser mi compañero y animarme en cada paso que doy y en cada uno de los procesos que fueron parte de la realización de este proyecto. A SEIT del HNMD, que ha sido un segundo hogar en estos 3 años, y a su equipo, del cual he aprendido muchísimo. Para ustedes va este objetivo cumplido.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	2
DEDICATORIA .....	3
ÍNDICE.....	4
ÍNDICE DE TABLAS .....	6
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	7
RESUMEN .....	8
ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO I .....	10
1.1 Planteamiento del problema, delimitación y formulación .....	10
1.2 Formulación de objetivos .....	12
1.2.1 General: .....	12
1.2.2 Específicos: .....	12
1.3 Justificación de la investigación .....	12
1.3 Limitaciones del estudio.....	13
CAPÍTULO II .....	14
2.1 Marco teórico .....	14
2.2 Formulación de la hipótesis.....	24
2.3 Diseño metodológico.....	24
2.3.1 Tipo de investigación .....	24
2.3.2 Población.....	24
2.3.3 Muestra .....	25
2.3.4 Variables .....	26
2.3.5 Operacionalización de variables .....	27
2.3.7 Técnicas e instrumentos .....	28
2.3.8 Plan de recolección de datos.....	28
2.3.9 Análisis estadístico de los datos .....	34
2.3.10 Consideraciones éticas .....	34
CAPÍTULO III.....	36
3.1 Resultados .....	36
3.2 Discusión.....	43
3.3 Conclusiones y Recomendaciones.....	47
BIBLIOGRAFÍA .....	49



ANEXOS .....	52
ANEXO N° 1 .....	52
ANEXO N° 2 .....	56
ANEXO N° 3 .....	57
ANEXO N° 4 .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Operacionalización de variables.....	27
TABLA 2: Características sociodemográficas según grupo de estudio.....	38
TABLA 3: Características clínicas según grupo de estudio.....	39
TABLA 4: Características microbiológicas en pacientes con coinfección TB-VIH.....	40
TABLA 5: Resultados de la radiografía de tórax según grupo de estudio.....	41
TABLA 6: Información sobre el estado VIH según grupo de estudio.....	41
TABLA 7: Cuantificación de ESAT-6 en orina según grupo de estudio.....	42
TABLA 8: Asociación entre nivel de CD4 y concentración de ESAT-6 en orina.....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Diagrama de dispersión CD4 y ESAT-6 del grupo 1 .....	42
GRÁFICO 2: Diagrama de dispersión CD4 y ESAT-6 del grupo 2 .....	43

## RESUMEN

**Introducción:** La tuberculosis cobra más de 1 millón de muertes anuales, cifra que incluye a pacientes con VIH ya que en ellos el diagnóstico se torna complejo: presentan falsos negativos en la baciloscopía, no forman granulomas observables en la radiografía y pueden empeorar el cuadro clínico mientras esperan el resultado del cultivo. Por ello las investigaciones se centran en la detección de antígenos del *Mycobacterium tuberculosis*, entre los que destaca el ESAT-6, por su posibilidad de conservación mediante nanopartículas y su cuantificación con ELISA; no obstante, aún no está dilucidada su relación con el CD4. **Objetivos:** Determinar la asociación entre la cuantificación del ESAT-6 en orina obtenidas mediante el uso de nanopartículas de hidrogel y el nivel de CD4 en pacientes con co infección VIH-TB. **Materiales y métodos:** Análisis secundario de base de datos. Se recolectó información de dos grupos: 1) TB+ VIH+ y 2) TB- VIH+ para su posterior análisis estadístico. **Resultados:** Se obtuvo información de 151 pacientes. Para cada grupo se obtuvo la media de CD4 y de ESAT-6, resultado que mostró que a menor cantidad de CD4 la cuantificación de ESAT-6 fue mayor; sin embargo, la prueba de Kruskal-Wallis determinó que no existe asociación estadística entre ambas variables ( $p=0.2647$ ). **Conclusiones:** Aunque el resultado fue de no asociación, la literatura muestra que existe una relación entre el comportamiento de los CD4 y la presencia de ESAT-6 en los pacientes. Por ello se recomiendan estudios con mayor muestra y un análisis multivariado. **Palabras clave:** ESAT-6, CD4, tuberculosis, VIH, nanopartículas.

## ABSTRACT

**Introduction:** Tuberculosis charges more than 1 million deaths per year, a figure that includes patients with HIV since in them the diagnosis becomes complex: they have false negatives on smear microscopy, they do not form observable granulomas on lung radiography and can worsen the clinical picture while waiting for the result of the culture. Therefore, the research focuses on the detection of Mycobacterium tuberculosis antigens among which ESAT-6 stands out, for its possibility of conservation by nanoparticles and its quantification by the ELISA test; however, its relationship with the level of CD4 lymphocytes is not yet elucidated. **Objectives:** To determine the association between the quantification of ESAT-6 in urine obtained through the use of hydrogel nanoparticles and the level of CD4 in patients with HIV TB co infection. **Materials and methods:** Secondary database analysis, information was collected from two groups: 1) TB+ HIV+ and 2) TB- HIV+ for further statistical analysis. **Results:** Information was obtained from 151 patients. For each group, the average of CD4 and ESAT-6 was obtained, a result that showed that at a lower amount of CD4 the quantification of ESAT-6 was greater; nevertheless, the Kruskal-Wallis test determined that there is no statistical association between both variables ( $p = 0.2647$ ). **Conclusions:** Although the result was of no association, the literature shows that there is a relationship between the behavior of CD4 and the presence of ESAT-6 in patients. Therefore, studies with a larger sample and a multivariate analysis are recommended. **Keywords:** ESAT-6, CD4, tuberculosis, HIV, nanoparticles.

## CAPÍTULO I

### 1.1 Planteamiento del problema, delimitación y formulación

La tuberculosis (TB) es un problema de salud pública en nuestro país y en el mundo. Tan solo en el 2018, según el último reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que hubo 1.2 millones de muertes, y que adicionalmente, 251 000 personas con VIH fallecieron producto de la coinfección. (1) En el mismo año, el 8.6% aproximadamente, de nuevos casos con TB, fueron pacientes con diagnóstico de VIH, condición que dificulta el diagnóstico, retarda el tratamiento temprano y aumenta la mortalidad. (1,2)

Métodos como la baciloscopia y la radiografía de tórax son de baja sensibilidad para su diagnóstico, y el cultivo, actual prueba de referencia, requiere de 2 hasta 3 meses para brindar un resultado positivo y una prueba de resistencia a los principales fármacos. (3,4) Con el advenimiento del Xpert MTB/RIF, un ensayo molecular basado en la amplificación de ácidos nucleicos, se ha observado su superioridad frente a la baciloscopia en la detección de enfermedad activa en niños y adultos, e incluso, en pacientes con VIH, por lo que viene siendo ampliamente recomendado por la OMS. (5,6) Sin embargo, los altos costos que requiere su implementación y la necesidad de personal capacitado para su uso, hace que su aplicación en el primer nivel de atención sea difícil, dados los aspectos técnicos y de infraestructura que caracterizan a los servicios básicos de salud de países en vías de desarrollo. (2,7)

En este contexto, en los últimos años, se han venido desarrollando numerosos ensayos de pruebas moleculares que detectan antígenos generados por el *Mycobacterium tuberculosis* y sus respectivos anticuerpos. Dentro de los primeros, destacan el Ag85B, el lipoarabinomano (LAM) y el ESAT-6 (*early secretory antigenic target 6-kDa*). Si bien el Ag85B es el más abundante dentro de las proteínas secretadas (40%) solo se eleva al inicio de la infección y no es completamente específico del *M. tuberculosis*. (8) El LAM, antígeno de la pared bacteriana, es detectado actualmente en orina de pacientes con VIH con síntomas de TB pulmonar o extrapulmonar y un conteo de células CD4+ menor a 100 células /  $\mu$ l; no obstante, su menor sensibilidad para pacientes VIH que no están en fase SIDA y su dependencia al estado inmunitario, impiden que su uso pueda ser masificado. (9–11)

Es entonces que el antígeno ESAT-6 se perfila como la nueva opción para un diagnóstico rápido y sencillo. Esta proteína de eliminación temprana por el bacilo, aparece en la orina de pacientes infectados con TB y ya ha sido detectada mediante inmuno-PCR en otros fluidos corporales, método que, sin embargo, es de altos costos. (8,12,13) La conservación de este antígeno mediante el uso de nanopartículas permitiría su posterior cuantificación mediante métodos más sencillos, como el ELISA. Para esto, se utilizarían nanopartículas de hidrogel (NPH), las cuales ya han sido empleadas en el diagnóstico de otras enfermedades, y a diferencia de otros tipos, poseen una estructura porosa que permite el paso de proteínas, con peso molecular y forma característicos, hacia un espacio tridimensional de elevada capacidad de adsorción, en el cual serán conservados frente a las enzimas de la orina y la manipulación en el laboratorio. (14,15)

Esta nueva prueba adquiere mayor relevancia en los pacientes inmunocomprometidos. Dada la depleción inmunitaria que padecen producto de la infección por VIH, no producen formas cavitarias, por lo que presentan resultados falsos negativos en la baciloscopía. Además, al no formar granulomas característicos, no se observan infiltrados en la radiografía de tórax y pueden desarrollar formas extrapulmonares muy graves, que no pueden esperar el resultado tardío del cultivo usado como diagnóstico en la población general, ya que pueden llegar a la infección diseminada de otros órganos y a la muerte. (11)

Aunque la utilización del ESAT-6 se muestre prometedor para el diagnóstico de TB, se sabe que, a diferencia de lo que sucede con otros antígenos, las células TCD4<sup>+</sup> específicas para ESAT-6 experimentan un “agotamiento funcional”, es decir, no responden a las señales que demandan su proliferación y desarrollan un tipo de tolerancia periférica frente a la infección. Esta relación entre las concentraciones, al parecer inversa, no ha sido dilucidada aun, por lo que es el objetivo de esta investigación. (16,17)

Conocer si existe asociación entre la concentración de ESAT-6 en orina y el nivel de CD4<sup>+</sup> del paciente, permitirá dirigir adecuadamente el empleo de esta nueva prueba a la población con coinfección TB-VIH.

## **Formulación del problema**

¿Existe asociación entre la concentración de antígeno ESAT-6 en orina, mediante el uso de nanopartículas de hidrogel, y el nivel de CD4 en pacientes con coinfección VIH y tuberculosis?

### **1.2 Formulación de objetivos**

#### **1.2.1 General:**

Determinar la asociación entre la cuantificación del antígeno ESAT-6 captado en orina mediante el uso de nanopartículas de hidrogel y el nivel de CD4 en pacientes con VIH y VIH-TB.

#### **1.2.2 Específicos:**

1. Describir el nivel del antígeno ESAT-6 en orina captado mediante nanopartículas.
2. Describir el nivel de células CD4 de pacientes con VIH.
3. Describir la carga viral de pacientes con VIH.
4. Describir las características sociodemográficas, clínicas, radiológicas y laboratoriales de los pacientes con VIH, según status TB.

### **1.3 Justificación de la investigación**

En nuestro medio, las pruebas más accesibles para detectar TB, dados los bajos costos para su implementación, son la baciloscopia y el cultivo (Lowestein-Jensen u Ogawa). (18) En los pacientes con VIH, el diagnóstico temprano de TB es crucial. Producto del compromiso de su inmunidad, desarrollan formas extrapulmonares, lo cual puede generar una sintomatología diferente y retrasar así la sospecha clínica. (2)

Cuando se les realizan exámenes, hasta un 62% de pacientes tienen un resultado positivo con el test de tuberculina, lo cual indica infección, pero no necesariamente enfermedad. Al tener una sintomatología diferente, presentan escasa tos y poco esputo, por lo cual es difícil la obtención de muestras para el examen microbiológico. A la microscopia,



frecuentemente arrojan resultados negativos, que deben ser confirmados mediante el cultivo, examen que demora entre 30 a 60 días. (11)

Las nuevas pruebas para detectar TB en estos pacientes, como el Xpert MTB/RIF y el LAM en orina, son ampliamente aceptados y utilizados con buenos resultados; sin embargo, a pesar de sus beneficios, el primero puede no ser asequible y fácil de usar (requisito indispensable para su empleo en el primer nivel de atención) y el segundo está supeditado al estado inmunitario del paciente con VIH. (2,5,6,9,10)

Es por ello que otro antígeno, el ESAT-6, surge como posibilidad diagnóstica en una muestra de fácil obtención, la orina. Con la creación de las NPH, el ESAT-6 podría conservarse para su posterior cuantificación en el laboratorio. (8,13–15)

A pesar de ello, para su adecuada utilización en los pacientes con VIH, se requiere conocer el comportamiento de este antígeno en función a la inmunidad del usuario. Si bien se ha descrito que las células CD4+ dejan de producirse y funcionar adecuadamente en presencia del ESAT-6, se necesita mayor investigación en el campo, a fin de dirigir la implementación de esta nueva prueba a la población adecuada. (16,17)

### **1.3 Limitaciones del estudio**

Este estudio de análisis secundario ha empleado los datos recabados de la investigación principal y ha requerido los resultados del conteo de CD4 y la carga viral de los pacientes incluidos, información que se recolectó de historias clínicas del HNMD, así como de las fichas de información del estudio principal.

Dentro de las limitaciones se incluye la falta de información sobre algunos análisis considerados como variables en este estudio, cabe mencionar resultados baciloscopías o cultivos, carga viral y CD4 o que estas últimas tengan un tiempo de recolección mayor a 3 meses desde la fecha de enrolamiento, por lo que no se considerarían actualizadas. Asimismo, ha existido pérdida de seguimiento de algunos de los participantes, lo que conllevó a que estos no se realicen las pruebas de monitoreo de VIH y descarte de TB u otras enfermedades que forman parte de su cuidado estándar hospitalario.

## CAPÍTULO II

### 2.1 Marco teórico

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa cuyo agente etiológico fue descubierto por Robert Koch en 1882, pero que aun en el 2020 sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo. En el año 2018, según el último reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que hubo 1.2 millones de muertes por TB, y que adicionalmente, 251 000 personas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) fallecieron producto de esta infección. En términos de casos, se estima que en el 2018 hubo 10 millones de casos nuevos de TB, dentro de los que se incluyen un 8.6% que corresponde a las personas VIH-positivas. De los casos nuevos el 57% fueron varones; el 32%, mujeres y el 11%, niños. (1,2) Aunque a nivel mundial, las tasas de incidencia y mortalidad han disminuido, reducciones más rápidas en estos parámetros requieren mejoras en el acceso al diagnóstico y a la atención, así como una acción centrada en los determinantes asociados a la incidencia de TB y en el avance en el descubrimiento de nuevas vacunas, métodos diagnósticos y tratamientos. (1)

En este contexto, cabe resaltar, que los estados miembros de la OMS aprobaron por unanimidad el programa “The EndTB Strategy”, en la última Asamblea Mundial de Salud realizada el 2014. Esta estrategia abarca un periodo de 20 años (2016-2035) y comparte con los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) una meta en común, acabar con la epidemia mundial de tuberculosis, basándose en tres pilares: (a) promover una atención y prevención integradas y centradas en el paciente, (b) fomentar políticas y sistemas de soporte y (c) promover e intensificar la investigación y la innovación (3,18)

La mayoría de casos de TB se atribuyen a *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), aunque este está estrechamente relacionado con *Mycobacterium africanum* y en una minoría de casos se han reportado zoonosis debido a miembros del complejo *M. tuberculosis*, tales como *M. bovis* y *M. caprae*. (19) En el caso de *M. tuberculosis*, el ser humano es, hasta el momento, el único reservorio conocido. (2) Así, este bacilo se comporta como un patógeno y un simbiote, lo cual tiene implicancias en nuestro conocimiento sobre las interacciones huésped-patógeno, pues se han descubierto a través de algunos estudios una amplia variabilidad genética en diversas partes de mundo, lo que genera cepas que al ser

importadas a otros países, pasan de un comportamiento hipervirulento a una presentación clínica y epidemiológica normal. Esto dificultaría el intento de descubrir factores de virulencia específicos de cada linaje para ser utilizados en la priorización de la atención al paciente y el control de las infecciones. (2,20)

Ya que el riesgo de realizar la enfermedad tuberculosa es mayor que el riesgo de desarrollar la enfermedad a partir de la vacuna de la cepa viva del *M. bovis* (bacilo de Calmette Guérin o BCG), esta es aplicada a niños recién nacidos cada año. Esta diferencia es explicada a través de regiones genéticas especializadas, entre las que destaca la región RD1, la cual contiene genes que codifican un sistema de secreción bacteriano, el ESX-1. (21) Este sistema tiene relevancia en el proceso de fagocitosis del bacilo: cuando la bacteria es asimilada por los macrófagos del hospedador, el sistema ESX-1 interviene en la entrega de productos bacterianos en el citoplasma de los macrófagos, lo que va a inducir una respuesta de tipo I mediada por interferón (IFN). (22) La ausencia de RD1 en las cepas de BCG y de otras micobacterias no tuberculosas es lo que ha permitido la administración de la vacuna, y la distinción de la infección y de la respuesta del huésped causada por *M. tuberculosis*, de la infección por micobacterias ambientales. (2)

Cuando la persona se expone al bacilo, se pueden desarrollar dos posibilidades: la eliminación o la persistencia del agente patógeno. El Mtb es inhalado e ingresa por las vías respiratorias, donde es encontrado por los macrófagos alveolares. Estas células fagocitan los bacilos mediante reconocimiento de diversos receptores. Una vez internalizados, los bacilos bloquean la unión del fagosoma con el lisosoma, lo que permite su supervivencia. (23) A través de la actividad del sistema de secreción ESX-1, los bacilos alteran la membrana fagosomal, lo cual genera una liberación de productos bacterianos al citosol del macrófago, incluido el ADN bacteriano. (22) Luego de ello, el Mtb accede al intersticio pulmonar por dos mecanismos posibles: mediante infección directa de las células epiteliales o a través de la trans migración de los macrófagos infectados, desde la vía respiratoria al parénquima pulmonar. Al establecerse esta “infección primaria”, el sistema inmunitario del huésped generará respuesta a través de células dendríticas y monocitos inflamatorios, quienes transportarán al bacilo a los ganglios linfáticos, para ser presentados a las células T. (2) Esto genera el reclutamiento de otras células inmunitarias, tales como células T, células B y macrófagos. Es así como se irá formando el granuloma,

el cual, desde la perspectiva del hospedador, se comporta como un “aislante” bacteriano, ofreciendo protección de la infección al resto del cuerpo. Sin embargo, para el bacilo, es una fuente creciente de células fagocitarias a las que puede infectar para luego multiplicarse. En este punto cobra relevancia el sistema ESX-1, que genera una respuesta mediada por IFN, el cual ha sido vinculado con el reclutamiento de una población mieloide en específico, la CD11b<sup>+</sup> F4/80<sup>+</sup> Gr1<sup>int</sup>, la cual es muy permisiva a la infección por el Mtb. (2,24)

Si el agente patógeno no logra ser eliminado por la respuesta inmunitaria innata pero el granuloma logra contener el progreso de la infección sin inducir un daño tisular mayor, se considera que la persona entra al estado de “infección de tuberculosis latente” (LTBI por sus siglas en inglés). Este estado puede ser diagnosticado mediante la prueba cutánea de tuberculina (TST) o el ensayo de liberación de interferón gamma (IGRA), generando un resultado positivo. El paciente, sin embargo, no presentará síntomas (TB subclínica), pero podría tener cultivo positivo, aunque su examen de baciloscopía sea negativo, producto de la baja carga bacilar. En este caso, la persona deberá tener un tratamiento profiláctico con isoniácida por 6 a 12 meses, dependiendo del grado de riesgo que tenga de hacer la enfermedad. No obstante, el resultado positivo en una de las pruebas no implica automáticamente que el paciente posea una infección latente; puede darse el caso de que esté libre de infección, pero presente reacción positiva producto de la respuesta de las células T de memoria. (2)

En la mayoría de los individuos, la inmunidad brindada por los macrófagos, las células dendríticas y las células T es suficiente para mantener la infección asintomática. Sin embargo, por razones aun no dilucidadas, la infección puede progresar a enfermedad manifiesta. Durante esta fase de “enfermedad activa de la tuberculosis”, el granuloma deja de contener la ingente carga bacteriana y los bacilos se diseminan por otros órganos mediante el torrente sanguíneo, pudiendo reingresar al tracto respiratorio, lo cual generará síntomas como tos, fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso, convirtiendo al huésped en fuente de contagio. (2)

El diagnóstico en esta etapa ha sido motivo de diversas investigaciones. De manera clásica se menciona que las pruebas usadas para detectar tuberculosis latente (TST o IGRA) generalmente son positivas, pero podrían también dar un resultado negativo,

producto de la anergia inducida por la enfermedad misma o el estado de inmunosupresión causado por alguna comorbilidad, como el VIH o la desnutrición. El TST, realizado mediante la técnica de Mantoux, consiste en una inyección intradérmica de 5 unidades de tuberculina (5 UT) de un derivado proteico purificado (PPD) S o 2 UT de PPD RT. Si la persona posee inmunidad celular contra estos antígenos, se producirá una reacción de hipersensibilidad en un plazo de 48 a 72 horas. La interpretación de esta prueba toma en cuenta el tamaño de la induración, la probabilidad previa de una infección por *M. tuberculosis* y el riesgo de desarrollar la enfermedad activa si la persona estuviera realmente infectada. Aunque el TST tiene ventajas por el bajo costo (equipos, reactivos y recursos humanos), tiene dos limitaciones importantes: su especificidad disminuye a mayor edad (después de la infancia) o al aplicar un refuerzo de la BCG, y tiene un valor predictivo limitado, ya que la mayoría de individuos con un resultado positivo no progresa a enfermedad activa. (2)

Con la intención de reemplazar el TST, los IGRAs fueron introducidos hace dos décadas aproximadamente. El IGRa consiste en una prueba de sangre *in vitro* de la respuesta inmune mediada por células: mide la liberación del INF- $\gamma$  por estimulación del RD1. Los antígenos RD1, como ya se mencionó, son más específicos del Mtb que los antígenos del PPD, porque no están codificados en el genoma de las cepas de la vacuna del BCG o de otras especies de micobacterias no tuberculosas. Sin embargo, al igual que el TST, los IGRAs poseen un pobre valor predictivo positivo. Ambas pruebas tienen una sensibilidad reducida en pacientes inmunocomprometidos y no hay prueba que distinga con precisión entre la fase latente y la fase activa de la enfermedad. En general, no hay una prueba que satisfaga la necesidad de identificar individuos con alto riesgo de desarrollar la enfermedad activa. (2,25)

Cuando la persona manifiesta la enfermedad propiamente dicha, cuatro son los métodos con los que puede ser evaluado: imagenología (rayos X y tomografía), microscopía (frotis de esputo o baciloscopía), cultivo y pruebas moleculares. La radiografía de tórax, sin embargo, es más usada para tamizaje o seguimiento, y posee una baja especificidad, por lo que requiere una posterior evaluación con un examen microbiológico. Los avances en este campo, actualmente, proporcionan nuevos conocimientos sobre la variedad de

lesiones pulmonares, pero son de costos elevados y no se recomiendan para uso rutinario. (2)

La baciloscopia, por el contrario, pese a sus limitaciones, sigue siendo el examen más utilizado, especialmente en países de bajos y medianos ingresos. (19) Este examen microscópico directo consiste en la identificación de bacilos ácido-alcohol resistentes, mediante el uso de la tinción de Ziehl Neelsen; sin embargo, su sensibilidad es limitada dado que es dependiente de operador, y es incapaz de discriminar entre especies micobacterianas, lo cual es relevante en casos de TB infantil y en personas inmunocomprometidas, en quienes frecuentemente se hallan resultados falsos negativos.

(3) Esta deficiencia ha sido parcialmente cubierta con el advenimiento de la microscopia por fluorescencia, la cual tiene una sensibilidad superior en un 10%, pero que genera mayores costos y la necesidad de un personal entrenado. (3) En el caso de los cultivos, las pruebas convencionales como el Lowenstein-Jensen, si bien son consideradas como el estándar de referencia en medios como el nuestro, tienen una demora de hasta dos meses para dar un diagnóstico positivo o negativo, y hasta de tres, cuando de dar un resultado de susceptibilidad a drogas antituberculosas se trata. (4)

Por esta razón, en nuestro país, se utilizan tres pruebas consideradas rápidas para el diagnóstico de TB, pero enfocadas a la detección de resistencia a medicamentos, las cuales son de tipo fenotípicas o genotípicas. Así, el Griess consiste en la determinación de la actividad de la nitrato reductasa en cultivos de crecimiento activo del *M. tuberculosis*, que da como resultado una reacción colorimétrica, lo cual permite detectar la presencia del bacilo; además de ello, se compara con tubos que contienen fármacos antituberculosos, para evaluar la resistencia, dando un resultado al cabo de 14 a 21 días.

(4) El MODS, método de observación microscópica de la susceptibilidad a drogas, está basado en el crecimiento del bacilo en placas que contienen muestras de esputo descontaminadas y resuspendidas en un medio líquido, en las cuales se evalúa la susceptibilidad a isoniazida y rifampicina, mediante la detección, con un microscopio de luz invertida, del crecimiento de microcolonias en forma de cordón, desde el quinto día, pudiendo dar un resultado positivo entre 7 a 14 días. (4) Finalmente, el Genotype MTBDR plus ®, método basado en la tecnología DNA STRIP, identifica en horas mediante genética molecular, al complejo *Mtb* y su condición o no de multidrogorresistencia. (4)

Aunque las tres pruebas tienen una sensibilidad (>90%), presentan costos elevados por paciente, debido a los requerimientos laboratoriales y la capacitación del personal, sin mencionar que están más enfocados a la detección de resistencia en los pacientes evaluados. (4)

En los últimos años, con el surgimiento del Xpert MTB/RIF, un ensayo molecular basado en la tecnología automatizada GeneXpert, se ha observado en diversos estudios su superioridad sobre la baciloscopía en el descarte de pacientes adultos o niños con sospecha de tener TB activa, por lo que es actualmente recomendado por la OMS como diagnóstico de primera línea. (5) Incluso en pacientes con VIH, la baciloscopía solo detecta entre el 22-43% de casos con enfermedad activa, por lo que la OMS también recomienda iniciar el diagnóstico con esta prueba relativamente nueva. (5,6)

En el caso de la TB infantil, el diagnóstico es más difícil, pues los pacientes presentan síntomas inespecíficos (retraso en el crecimiento, por ejemplo) y el recojo de muestras respiratorias implica mayores esfuerzos. (26) De allí la importancia de valorar la historia de contactos con la enfermedad y el resultado de la radiografía de tórax. (2) La baciloscopía puede ser negativa en estos casos, por lo que, en caso pueda obtenerse esputo o secreción por aspirado gástrico, se recomienda realizar un examen microbiológico a través de esputo y Xpert MTB/RIF. (2) Este último, en la enfermedad de tuberculosis infantil, demostró que tiene una sensibilidad de 36-44%, superior a la baciloscopía; y en comparación con el cultivo de esputo o de aspirado gástrico, posee una sensibilidad del 62-66% y una especificidad del 98%. (5,27) Por esta razón, la OMS también lo recomienda para pacientes con sospecha de TB infantil, linfadenitis por TB y meningitis tuberculosa. (5)

Sin embargo, a pesar de los grandes beneficios que presenta esta prueba, los exámenes moleculares, en general, pueden no ser asequibles y fáciles de usar, requisitos indispensables para su empleo en el primer nivel de atención; lo que hace que su implementación descentralizada en países de bajos ingresos sea difícil debido a aspectos técnicos y de infraestructura. (2,7) Aunque se están diseñando sistemas más especializados, como el GeneXpertOMNI, con portabilidad y plataforma operada por baterías, se hace necesaria la búsqueda e identificación de biomarcadores (antígenos, anticuerpos, compuestos orgánicos volátiles o marcadores enzimáticos) que permitan el

desarrollo de nuevas pruebas, más aun para las personas con LTBI, de modo que puedan recibir tratamiento preventivo y así se disminuya la tasa de pacientes que progresan a la enfermedad activa. (2)

Al respecto, se sabe que varios antígenos (como el antígeno inmunodominante Ag85B y el PstS1) y las regiones de diferenciación (RD1 y RD2) codifican proteínas como el ESAT-6 (*early secretory antigenic target 6-kDa*), el CFP-10, el MPB-64/MPT-64 y el CFP-21, los cuales pueden ser detectados mediante la técnica de inmuno-PCR (I-PCR) en fluidos corporales de pacientes con tuberculosis, técnica que refleja mejores resultados que el ELISA. (8,12) De los mencionados, el complejo del antígeno 85 (Ag85) es el más abundante del filtrado de cultivo de proteínas del *Mycobacterium tuberculosis*, y comprende tres proteínas relacionadas, Ag85A, Ag85B y Ag85C, entre las que destaca el Ag85B, el más abundante dentro de las proteínas secretadas (40%) y que puede ser detectado en pacientes con meningitis y TB pulmonar, por lo que se le viene considerando como un potencial biomarcador de diagnóstico para TB. (8) El *cord factor* es considerado un factor de virulencia genuino del *M. tuberculosis* y es crucial para la supervivencia de la bacteria dentro del macrófago, ya que evita la fusión del fagosoma con el lisosoma. (8) LAM, el lipoarabinomanano, es un polisacárido presente en la pared bacteriana de agentes metabólicamente activos, y se suelta para inactivar macrófagos y evitar la acción de radicales oxidativos; por lo que se le puede detectar en individuos con la enfermedad activa de tuberculosis. (8) PST1, a diferencia del Ag85B, es altamente específica de *Mtb* ya que está ausente en la mayoría de micobacterias no tuberculosas y se produce en cantidades muy bajas en *M. bovis*. Se produce durante el crecimiento activo del bacilo, por lo que se le considera un marcador de la replicación micobacteriana, a diferencia del antígeno ESAT-6. Sin embargo, esta proteína, mediante ELISA, reacciona con sueros de pacientes multibacilares o enfermedad pulmonar tuberculosa avanzada, pero no reconoce adecuadamente sueros con baja carga bacilar o de personas asintomáticas, situación que es diferente cuando se trata del ESAT-6, con el que se ha hallado una correlación inversa en cuanto a la carga bacteriana y la respuesta humoral específica a ESAT-6. (8) MP-64 y CFP-21 son otras proteínas específicas del *M. tuberculosis* que están ausentes en la mayoría de cepas del BCG, en el *M. leprea* y en las micobacterias no tuberculosas. Ambas tienen un rol importante en la virulencia e inducen una respuesta de hipersensibilidad retardada en animales de experimentación sensibilizados. (8)



ESAT-6 y PPC-10, los antígenos más populares del complejo *M. tuberculosis*, forman un heterodímero complejo y están implicados en los mecanismos de virulencia, pudiendo inducir apoptosis en los macrófagos. (8) El antígeno ESAT-6, una de las primeras proteínas secretadas, es liberado por Mtb cuando este inicia la infección del macrófago, activando el INF- $\gamma$ , lo que produce el reclutamiento de las células T CD4+. El ESAT-6 está presente en la región RD1, por lo que es considerada elevadamente específica del Mtb, y no está presente en las cepas del BCG. (28) Por esta razón, tanto el ESAT-6 como otros antígenos (CFP10 y TB7.7) han sido incluidos en el IGRA para detectar TB latente, pero se han obtenido resultados discordantes entre esta prueba y el TST, en áreas altamente endémicas de TB. (28)

Investigadores como Mehta y Singh, han desarrollado la detección de antígenos hallados en pacientes con tuberculosis, mediante la técnica de inmuno-PCR (I-PCR), la cual es similar al ELISA, que es el método más común para detectar antígenos micobacteriales y anticuerpos; pero que tiene su principal falencia cuando las concentraciones de sus blancos son bajas. (8) En el caso del I-PCR, no se usa una enzima conjugada a un anticuerpo, sino un fragmento de ADN unido a un anticuerpo mediante enlace covalente o a través de estreptavidina-biotina; unión que luego se amplificará por PCR, para detectar los antígenos que se encuentren en la muestra estudiada. (8) Los antígenos con los que trabajaron fueron AG85B, el ESAT-6 y el *cord factor*, los cuales fueron evaluados por ELISA e I-PCR en las muestras de fluidos pleurales, pus de distintos orígenes, líquido ascítico, aspirado de ganglios linfáticos, entre otros, de pacientes agrupados según el resultado de su baciloscopia. (8) Los resultados arrojaron la utilidad potencial del I-PCR para detectar antígenos y anticuerpos, en comparación con el ELISA, entre los que destacaron con alta sensibilidad el AG85B y la mezcla formada por AG85B, ESAT-6 y *cord factor*. Si bien la detección de anticuerpos de estos antígenos posee una buena especificidad y reveló, además, una mejor sensibilidad en comparación con su detección individual; la detección de antígenos se considera más exacta que la detección de anticuerpos, puesto que hay un “periodo de ventana” durante la cual los antígenos están presentes en la muestra de suero, pero los anticuerpos no se han producido aun y además, la presencia de anticuerpos puede ser resultado de una reacción cruzada producto de una vacuna o de una exposición previa al patógeno sin que el paciente tenga necesariamente una infección activa. (8,12,13,29,30)

Aunque el método es rápido y reproducible, y trabaja con muestras de esputo, fluidos pleurales e incluso biopsias, necesita reactivos e instrumentos de alto costo, por lo que es de difícil empleo en países como el nuestro. (12,29) Al respecto, cabe mencionar que los antígenos que se desprenden del Mtb pueden llegar a la circulación y ser eliminados por la orina, la cual es más fácil de recolectar tanto en niños como en adultos, lo que podría facilitar el diagnóstico de TB en paciente con VIH y sospechosos de enfermedad activa, evitando así el uso de métodos invasivos para el recojo de muestras. (12) La detección de antígenos en orina ya se realiza mediante ELISA en pacientes no infectados con VIH y mediante LAM en pacientes adultos VIH positivos con signos y síntomas de TB pulmonar o extrapulmonar que tienen un conteo de CD4+ menor a 100 células /  $\mu$ l, o en pacientes VIH positivos gravemente enfermos independientemente de su recuento de CD4+ o aun si este es desconocido. (9,10) Sin embargo, al comparar el diagnóstico en pacientes co infectados con VIH o no, cuatro estudios muestran una mayor sensibilidad (de 14 a 53% más) en pacientes con VIH, pero menor especificidad (6 a 7% menos que el grupo sin VIH) para LAM y una baja sensibilidad en el caso de pacientes VIH negativos para la prueba ELISA (12,31)

Esta problemática es crucial para el diagnóstico de TB en pacientes con VIH, en quienes las pruebas clásicas como el cultivo son demasiado lentas como para ser considerados una prueba de tamiz, dadas las altas tasas anuales de mortalidad en esta población. (11) Los métodos ampliamente disponibles como el TST, la baciloscopia y la radiografía de tórax tienen deficiencias importantes, a pesar de su conveniencia por el bajo costo que poseen. Hasta un 62% de pacientes con TB-VIH tienen un resultado positivo para el TST, lo cual les otorga el diagnóstico de infección, pero no necesariamente de enfermedad activa; generalmente padecen tuberculosis sin síntomas clásicos y con una alta tasa de casos de TB extrapulmonar con baciloscopia negativa; no forman granulomas y en muchos casos no manifiestan tos ni pueden brindar una muestra de esputo adecuada donde se pueda hallar al bacilo, con lo cual se incrementa su riesgo de padecer una enfermedad tuberculosa crónica y severa, dado el retraso en el diagnóstico y el inicio del tratamiento. (11)

En este contexto, surge la posibilidad de diagnosticar TB en la orina, usando antígenos que sean específicos del Mtb y que sean de temprana eliminación. El ESAT-6 es uno de

los que cumple ambas condiciones, y es el que ha demostrado una sensibilidad elevada (de hasta 97%) en la detección de sus anticuerpos con técnicas rápidas y sencillas como el ELISA, en diversos fluidos. (8,13,30) La conservación de este antígeno, dada la degradación enzimática propia de la orina, se hace ahora posible gracias a la creación de nanopartículas, dentro de las que destacan las nanopartículas de hidrogel (NPH). Las NPH son una nueva tecnología producidas con N-isopropilacrilamida, que poseen una estructura porosa que va a realizar una especie de “cribado” en base al tamaño, permitiendo que solo las proteínas antigénicas penetren en su estructura, gracias a su peso molecular y a su forma, los cuales pueden ser ajustados en el laboratorio según los requerimientos deseados, usando cebos químicos internos que otorgan al espacio interior tridimensional, una superficie de alta fijación y elevada capacidad de adsorción. (14) Los antígenos así capturados, pueden ser eluidos en pequeños volúmenes, dando un factor de concentración proporcional a la relación volumétrica entre el volumen inicial de la orina y el volumen de elución final, para su posterior cuantificación. (14) Las partículas poseen protección ante la manipulación de la muestra y pueden ser fácilmente extraídas de las nanopartículas por electroforesis, lo cual permitiría su posterior análisis cuantitativo. (15)

Aunque la conservación del antígeno ESAT-6 se muestra prometedor con el advenimiento de las NPH, y su carácter específico del *M. tuberculosis* permite su inclusión como futuro diagnóstico de TB; en pacientes con VIH, en quienes el número de células T CD4<sup>+</sup> se encuentra disminuido producto de la infección viral, se desconoce si la cuantificación del antígeno en la orina se vería afectado por la inmunidad del paciente, tal como sucede con la prueba LAM, que, como ya se mencionó, está indicada para pacientes con coinfección VIH con un conteo de CD4<sup>+</sup> menor a 100 cél /  $\mu$ l. (10)

Al respecto, se conoce que, a diferencia de lo que sucede con el AG85B, antígeno que solo se eleva en la primera parte de la infección, las células T CD4 específicas para ESAT-6 no responden adecuadamente a la estimulación para su proliferación y experimentan un tipo de tolerancia periférica y un deterioro en la función efectora (“agotamiento funcional”), dada la presencia crónica de este antígeno, lo que limita su contribución al control del patógeno por su pobre reconocimiento de células infectadas. (16,17) Esta relación, al parecer inversa, entre la concentración del antígeno en el huésped y la cantidad de células T CD4<sup>+</sup>, es el objetivo principal de este estudio.

Esta investigación anidada al proyecto “*Un novedoso método en orina para el diagnóstico de tuberculosis activa mediante la detección del antígeno ESAT-6, utilizando nanopartículas de hidrogel en pacientes con co-infección VIH*”, busca determinar la relación existente entre la cuantificación del ESAT-6 en orina y el conteo de células CD4+ de pacientes con coinfección TB y VIH.

## **2.2 Formulación de la hipótesis**

Ho: No existe asociación entre la cuantificación del antígeno ESAT-6 en orina y el nivel de células CD4+ en pacientes con coinfección TB-VIH.

H1: Existe asociación entre la cuantificación del antígeno ESAT-6 en orina y el nivel de células CD4+ en pacientes con coinfección TB-VIH.

## **2.3 Diseño metodológico**

### **2.3.1 Tipo de investigación**

Es una investigación observacional, analítica y transversal, de análisis secundario de base de datos.

### **2.3.2 Población**

**Estudio principal:** La población del estudio madre son los pacientes con TB activa recién diagnosticados e infección VIH sin tratamiento antiTB, e independientemente del tratamiento antirretroviral y del estado clínico que presenten. El estudio se llevó a cabo en el Hospital Nacional Dos de Mayo (HNDM), localizado en la región Lima Centro, la cual es considerada un área endémica para ambas infecciones.

**Estudio secundario:** La población del presente estudio está comprendida por los pacientes con coinfección TB-VIH incluidos en los participantes del estudio principal.

### **2.3.3 Muestra**

#### **a. Estudio principal:**

##### **1. Tipo de muestreo:**

El tipo de muestreo ha sido consecutivo no probabilístico. La unidad de muestreo son los participantes con y sin diagnóstico de tuberculosis y/o VIH.

##### **2. Agrupación de participantes:**

En el estudio principal, los 360 participantes se dividieron en 4 grupos, de los cuales dos se han mantenido para el estudio actual.

- a.** Grupo 1: 90 pacientes con TB y VIH (+)
- b.** Grupo 2: 90 pacientes sin infección activa de TB detectable y VIH (+)
- c.** Grupo 3: 90 pacientes con TB y VIH (-)
- d.** Grupo 4: 90 pacientes sin infección activa de TB detectable y VIH (-)

Para el presente estudio, solo se consideró como muestra a los participantes con co infección VIH-TB y a los VIH positivos (grupos 1 y 2).

##### **3. Criterios de inclusión:**

- 1. Participantes con edad igual o mayor a 18 años.
- 2. Participantes con capacidad de entender y firmar el consentimiento informado, o en su defecto, que cuenten con un apoderado.
- 3. Participantes con capacidad de entregar una muestra de esputo y orina

##### **4. Criterios de exclusión:**

- 1. Participantes menores de 18 años.
- 2. Participantes con más de dos dosis de tratamiento antituberculoso.

3. Participantes que no firmen el consentimiento informado, o, en caso de tener trastorno del sensorio u otra condición que se lo impida, su participación en el estudio no sea aceptada por su apoderado o familiar.
4. Participantes gestantes.

b. **Presente estudio:**

La muestra del presente estudio constó de 151 pacientes del estudio madre, divididos en dos grupos, 59 con coinfección VIH-TB (GRUPO 1) y 92 solo con infección VIH (GRUPO 2).

#### **2.3.4 Variables**

a. Descriptivas:

1. Código del paciente
2. Edad
3. Sexo
4. Lugar de procedencia
5. Estado socioeconómico
6. Diagnóstico de VIH
7. Diagnóstico de TB
8. Coinfección TB-VIH

b. Para asociación:

1. Nivel de CD4
2. Fecha de colección de sangre para análisis de CD4
3. Cuantificación del antígeno ESAT-6 por ELISA
4. Nivel de carga viral de VIH
5. Fecha de colección de sangre para análisis de carga viral para VIH
6. Comorbilidades

## 7. Toma de TARV

### 2.3.5 Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables					
Variable	Definición conceptual	Dimensiones /índice	Tipo de variable	Escala de medición	Categorías
Edad	Fecha en día/mes/año	En día/mes/año	Cuantitativa Independiente	Ordinal de razón	Valor numérico
Sexo	Variable biológica y genética que divide a los seres humanos en mujer y hombre	Femenino Masculino	Cualitativa Independiente	Nominal	1: Femenino 2: Masculino
Lugar de procedencia	Departamento del cual proviene el paciente	Departamento del Perú	Cualitativa Independiente	Nominal	1: Lima metropolitana 2: Provincia
Diagnóstico de VIH	Un examen diagnóstico de ELISA con resultado positivo en la historia clínica (HC)	Resultado positivo de VIH escrito en la HC del paciente	Cualitativa Independiente	Nominal	1: sí 2: no
Nivel de CD4	Cantidad de Linfocitos T CD4 presentes en el paciente con VIH.	Cantidad de CD4	Cuantitativa Independiente	Ordinal de razón	Valor numérico
				Ordinal de intervalo	1: <100 2: 100-<200 3: 200-<300 4: 300- <400 5: $\geq 400$
Carga viral	Es la cuantificación de la infección por el virus que se calcula por estimación de la cantidad de partículas virales en sangre	Cantidad de partículas del virus	Cuantitativa (copias) Independiente	Ordinal de razón	Valor numérico
Diagnóstico de TB activa	Pacientes con infección activa por <i>M. tuberculosis</i>	Resultado positivo para <i>MY. Tuberculosis</i> en cultivo Ogawa o MODS	Cualitativa Independiente	Nominal	1: sí 2: no
Detección de antígenos ESAT-6 en orina	Un método diagnóstico con nanopartículas reveladas usando ELISA	Nivel de antígenos ESAT-6 capturados	Cuantitativa Dependiente	Ordinal de razón	Valor numérico
Coinfección TB-VIH	Paciente que tiene las dos enfermedades a la vez	Diagnóstico previo de VIH por HC y diagnóstico de TB activa	Cualitativa Independiente	Nominal	1: sí 2: no

### **2.3.7 Técnicas e instrumentos**

Se llenó una ficha por cada paciente, en la cual se constató el código de la persona y las variables mencionadas, principalmente nivel de CD4, carga viral y cantidad de ESAT-6. (Ver ANEXO 1)

### **2.3.8 Plan de recolección de datos**

#### **a. Procedimientos del estudio principal:**

##### **1. Tamizaje y enrolamiento:**

En el estudio madre, este procedimiento se llevó a cabo en los centros de salud anexados al estudio y las salas de hospitalización del HNDM. El tamizaje fue realizado por un personal técnico con experiencia en investigación y el enrolamiento fue cargo de un profesional de la salud (licenciada tecnóloga, médica, obstetriz y enfermera). Dicho enrolamiento fue de lunes a sábado de 8 am a 6 pm.

##### **1. Pacientes con tuberculosis (VIH positivo o negativo)**

Los participantes fueron enrolados en los Programas de Control de Tuberculosis (PCT) de los centros de salud anexados al estudio, siempre y cuando cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión y tuvieran de 0 a 2 días de tratamiento antituberculoso. Se contactó con las enfermeras a cargo del programa para la búsqueda activa de pacientes. Los centros de salud donde se enrolaron a los participantes fueron el C.S Max Arias, C.S. María Teresa de Calcuta, C.S. El Pino, C.S. El Porvenir, C.S. San Cosme, P.S. Class El Pino y C.S. Juan Pérez Carranza.

En el caso del HNDM, mediante el registro del Laboratorio de Micobacterias, se buscó pacientes con pruebas positivas para TB en las salas de hospitalización.



A los participantes con sospecha clínica pero baciloscopia negativa, se les incluyó en los grupos 1 o 3 hasta su confirmación microbiológica.

## **2. Recolección de datos:**

### *1. Cuestionarios:*

En el estudio principal se aplicó un cuestionario a todos los participantes, el cual constaba de 59 preguntas, siendo la primera parte dirigida al participante y la segunda llenada con registros médicos, exámenes de laboratorio o la historia clínica propiamente dicha.

Tuvo la siguiente estructura:

#### **a. Primera parte: dirigida al participante**

- 1. Filiación**
- 2. Información sociodemográfica**
- 3. Información sobre contacto TB**
- 4. Información clínica y laboratorio que incluye subsecciones de antecedentes médicos, signos y síntomas y medicación (pacientes ambulatorios)**

#### **b. Segunda parte: basada en el registro de la historia clínica y las pruebas auxiliares realizadas al paciente**

- 1. Radiografía de tórax**
- 2. Exámenes para diagnóstico de TB**
- 3. Pruebas para el diagnóstico de VIH**
- 4. Medicación concomitante (pacientes hospitalizados)**

2. *Muestras biológicas:*

En el estudio principal, se solicitaron 2 tipos de muestras (esputo y orina) en la visita, la cual se realizó mientras el paciente tuvo de 0 a 2 dosis de tratamiento antituberculoso. Ambas muestras fueron colectadas durante el mismo período.

En el presente estudio no se solicitaron muestras biológicas, debido a que es un análisis secundario de los datos ya recolectados durante el estudio madre.

3. **Procesamiento de muestras biológicas:**

1. *Espuito:* Las dos muestras colectadas se analizaron de la siguiente manera:

Una muestra fue analizada por baciloscopía bajo tinción de Ziehl Nielsen (cuya sensibilidad es 28% en población VIH y tiene una especificidad del 98%), para después proceder con el cultivo Ogawa. Este cultivo, que es un medio sólido, es actualmente la prueba de referencia para el diagnóstico de TB, que si bien cuenta con una sensibilidad de 83% y una especificidad de 100%, tiene la desventaja de que sus resultados se emiten desde 21 hasta 60 días posteriores a la toma de muestra. Estos dos procedimientos han sido realizados por tres tecnólogos de amplia experiencia en el Laboratorio de Micobacterias del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Dos de Mayo. Los cultivos positivos pasaron por test de susceptibilidad a drogas de primera línea por el método de proporciones del Instituto Nacional de Salud.

La segunda muestra fue procesada mediante cultivo MODS en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en el cual también se evaluó la resistencia a Rifampicina e Isoniacida.

2. *Orina:* Las muestras de orina recolectadas fueron almacenadas en refrigeración hasta su procesamiento, el cual se describe a continuación. Estos procedimientos fueron realizados de acuerdo a la guía de la Universidad George Mason.

El procesamiento de las muestras de orina en su totalidad se realizó en dos partes, el primer grupo recolectado durante los primeros 6 meses de enrolamiento, se procesaron en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad George Mason. La segunda parte se analizó en el Laboratorio de Biología Molecular del LID-UPCH.

**a.** Proceso preanalítico:

- i. Se transportaron las muestras según normas de bioseguridad, en refrigeración, dentro de las 6 horas de recolección, desde el centro de salud o sala de hospitalización, hasta la Unidad de Investigación Clínica (UIC) del Servicio de Enfermedades Infecciosas y Tropicales (SEIT) del HNDM, donde serían procesadas.
- ii. De la muestra, se extrajeron 10 ml para el Examen completo de orina que se realiza en el Laboratorio del Servicio de Patología Clínica del HNDM, el cual constó de un análisis mediante tira reactiva y del sedimento por microscopía. Este laboratorio hizo uso del equipo automatizado Aution Hidryd AU 40-50.
- iii. Posteriormente, la orina restante se alicuotó en 4 tubos Falcon, con un volumen de 45 ml por tubo, que luego fueron enfrentados a 1ml de nanopartículas de hidrogel (NPH) cada uno. Se dejó reaccionar a temperatura ambiente por espacio de 15 minutos, para luego ser centrifugados a 4000g por 20 minutos, en rotor basculante.
- iv. Finalmente, se eliminó el sobrenadante y resuspendió el pellet en 4ml de orina, volumen que se alicuotó en cuatro crioviales, los cuales fueron almacenados a -80 °C.

- v. En el caso de muestras de menor volumen, se adicionaron las nanopartículas, guardando la proporción de referencia (1 ml de NHP por 45 ml de orina). Los volúmenes de orina, los resultados del análisis laboratorial y las observaciones fueron registrados adecuadamente.

**b. Procedimiento analítico:**

i. *Concentración del antígeno ESAT-6:*

El pellet formado por NPH-antígeno ESAT-6 fue evaluado con MilliQ por tres veces. Para verificar la habilidad de captura de las NPH, se usó como control interno dos pocillos de antígeno ESAT-6 sin nanopartículas. Estos fueron incubados con 3ng de tripsina a 37°C por 1 hora en 50 mM Tris-HCl pH 7.2.

ii. *Electroforesis y verificación de captura:*

Se realizó dos ciclos de elución usando acetonitrilo e hidróxido de amonio como buffer de elución. Los eluidos fueron unidos y secados con flujo de nitrógeno a 40°C. Los antígenos fueron resuspendidos en una solución de tetralosa. Para determinar la presencia de antígenos en esta muestra, los eluidos fueron sometidos a una electroforesis en gel de poliacrilamida dodecilsulfato sódico al 12% (SDS-PAGE) a 12mA por 30 minutos y 24mA por 1 hora, para su revelación de la banda del antígeno ESAT-6, identificado por su peso molecular.

iii. *ELISA:*

- a) Las muestras fueron oxidadas con  $\text{NaIO}_4$  para agrandar el tamaño de los poros y permitir la entrada de los anticuerpos anti-ESAT-6. Las NPH unidas al antígeno serán transferidas al placas

de 96 pozos, las cuales serán bloqueadas con 1% BSA, enfrentadas al anticuerpo monoclonal anti-ESAT-6 y al conjugado anti-IgG, marcado con peroxidasa. Posteriormente fueron reveladas usando el sustrato, realizándose un ELISA de tipo indirecto. Las densidades ópticas fueron obtenidas mediante lectura en un fotómetro de microplacas (lector de Elisa) a 595 nm.

b) En cada corrida de placa de ELISA se incluyó calibradores (concentración conocida de antígeno ESAT-6) y controles internos (pocillos blanco, negativo y positivo).

### 3. *Sangre:*

Se recolectó una muestra de sangre de 3 ml de los participantes sin diagnóstico previo de VIH, para su posterior análisis mediante una prueba rápida. Si el participante ya cuenta con un diagnóstico documentado de VIH como mínimo 3 semanas previas a su enrolamiento, no fue tomada esta muestra.

Se realizó consejería pre-test y firma del consentimiento informado para la realización de la prueba. Esto, a fin de evaluar la posibilidad de que el participante haya estado expuesto al VIH, por lo que se le brindó información sobre esta infección, la fase SIDA y cómo prevenirla.

En cuanto a los análisis para seguimiento como el conteo de células CD4+ y la carga viral para VIH (ambas pruebas tomadas en el HNDM), se recabaron los datos que el paciente presente en la Historia clínica del SEIT del HNDM. En el caso de pacientes que no reciban tratamiento en este nosocomio, y por lo tanto, no se tenga acceso a sus exámenes, la información fue tomada de los resultados que se disponen en el INS. Ambos datos fueron incluidos en la Ficha de Recolección de datos del estudio principal y en la ficha que se manejó para esta investigación secundaria.

**b. Procedimientos del presente estudio:**

En el presente estudio, se recabaron las cuantificaciones de CD4, la carga viral y el valor del antígeno ESAT-6 de la ficha de datos del estudio principal, así como los resultados laboratoriales e imagenológicos del HNMD y los centros de salud anexados al estudio.

**2.3.9 Análisis estadístico de los datos**

Los datos fueron recolectados en una base de datos en Microsoft Excel y exportados al software STATA versión 13. Los resultados se presentan en tablas de frecuencias y porcentajes para las variables categóricas. Las variables numéricas continuas se muestran en medidas de tendencia central y dispersión, esto es, media y desviación estándar o mediana y rango intercuartil, dependiendo de si tienen o no distribución normal.

Para la primera parte del análisis estadístico se ha utilizado la prueba de Chi cuadrado, para comparar las proporciones de las variables categóricas, como las sociodemográficas y las clínicas, con un nivel de significancia del 5%.

Para el análisis de variables continuas, tales como el nivel de CD4, la carga viral y el nivel de ESAT-6 hallado en orina, se usó la prueba de U de Mann Whitney, para evaluar una posible asociación, también con un nivel de significancia del 5%.

Finalmente, para el análisis principal del estudio, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, para poder determinar la asociación entre la variable CD4 categorizada y el nivel del antígeno ESAT-6 detectado en la orina, con un nivel de significancia del 5%.

**2.3.10 Consideraciones éticas**

El estudio principal cuenta con la aprobación del comité de ética del Hospital Nacional Dos de Mayo y de la DIRESA para la captación de pacientes dentro del nosocomio y en los centros de salud periféricos al hospital. (ANEXO 2)

De igual manera, este proyecto fue sometido al comité de ética del hospital en mención y se obtuvo la aprobación requerida. (ANEXO 3)

Asimismo, se firmó un acuerdo sobre el uso de la base de datos del estudio principal, entre la tesista y la investigadora principal del estudio madre, por sugerencia del comité de ética del HNDM. (ANEXO 4)

Los datos recabados de cada paciente fueron de acceso solo para la investigadora. Cada paciente tuvo asignado un código que permitió su identificación sin el uso de su nombre o algún otro dato personal que pudiera revelar su identidad. Los escritos fueron resguardados en un anaquel privado al que solo tuvo acceso la investigadora.

No se usó consentimiento informado para el presente estudio, puesto que se cuenta con el consentimiento de los participantes para el estudio principal.

## CAPÍTULO III

### 3.1 Resultados

Se evaluaron 151 personas del estudio madre, de las cuales, 59 pertenecían al grupo 1 (coinfección VIH y TB) y 92 al grupo 2 (solo VIH). Se observó que 129 fueron varones y 22, mujeres. El grupo de edad más frecuente fue entre los 30 y 44 años (47.02% del total), seguido por los jóvenes de 18 a 29 años (48 personas). En cuanto a la procedencia, se observó que, según el grupo, el 56% y 87% provenían de Lima metropolitana, respectivamente.

Con respecto al nivel educativo, se observa una asociación estadísticamente significativa con el grupo de estudio ( $p=0.046$  al realizar la prueba de chi cuadrado). La tabla 2 nos señala que, aunque el mayor porcentaje está ocupado por personas con secundaria completa, la cantidad de individuos con estudios, ya sean escolares o superiores, son menores en el grupo de la coinfección, en comparación con el grupo 2.

En relación al tipo de ocupación, aunque en ambos grupos hay un porcentaje considerable que labora de forma independiente (77%), también cabe resaltar que en un 48.48% y 51.52%, respectivamente, se encuentran personas sin empleo. Con respecto al salario, la tabla 2 muestra que 56 personas ganan menos de 750 soles mensuales, representando el 37.58%, del total, mientras que 47 individuos (31.54%) perciben un monto entre 750-2500 soles.

En cuanto a las características de la vivienda, el 33.63% y 66.37% del grupo 1 y 2 respectivamente, fueron construidas de ladrillo y más del 90% de participantes cuentan con servicios básicos de agua y luz. Sin embargo, cabe destacar que 2 personas, una de cada grupo, no contaban con vivienda al momento del enrolamiento.

Se evaluó también el consumo de alcohol y de tabaco, encontrándose que 144 (96%) personas no consumían alcohol y 142 (94.67%) negaron el consumo de drogas.

La tabla 3 nos presenta las características clínicas de los pacientes de ambos grupos, encontrándose asociación significativamente estadística en signos y síntomas como fiebre, pérdida de peso, hemoptisis, anorexia, astenia, dolor de espalda, sudoración nocturna y escalofríos. En relación a los grupos, se observó que en cuanto a la tos seca y



con flema, el grupo 2 tuvo mayores porcentajes de sintomáticos. Sin embargo, en los signos y síntomas que sí tenían una asociación significativa, el grupo 1 presentó mayor proporción de pacientes con respecto al grupo 2.

Con respecto a la información microbiológica del grupo con coinfección, esta se agrupó en la tabla 4. Se observa que el 67% de pacientes cursaron con TB pulmonar, pero también se señala otros tipos de afectación, como ganglionar, multisistémica y otras específicas de algunos órganos. En la baciloscopia, aproximadamente el 70% tuvo un resultado negativo, mientras que en el cultivo Ogawa, solo el 52% tuvo el mismo resultado. Se muestra también el cultivo MODS, la cual fue realizada a solo 36 pacientes que pudieron dejar la muestra adecuada. De estos, solo 15 (25% del total) tuvieron un resultado positivo. Finalmente, se agrupó los resultados de sensibilidad obtenidos, destacando que 18 pacientes tuvieron TB sensible a medicamentos, 2 establecieron resistencia solo a uno de los medicamentos principales (isoniazida o rifampicina) y 3 resultaron ser multidrogorresistentes (MDR).

Por otro lado, la tabla 5 muestra los informes de las radiografías de tórax realizadas a pacientes de ambos grupos. Aunque no todos se realizaron este examen imagenológico, se detalla que el grupo 1 tuvo mayor proporción de exámenes con algún hallazgo anormal (71%), en comparación con el grupo 2 (28%).

La información sobre el estado VIH de ambos grupos, fue registrada en la tabla 6. Se realizó la prueba de U de Mann Whitney, cuyo resultado fue estadísticamente significativo, revelando así una asociación entre el nivel del CD4 y el grupo de estudio ( $p=0.001$ ) y entre la carga viral y el grupo ( $p=0.003$ ). Asimismo, se muestran las medianas y el rango intercuartil de ambas variables continuas. Se aprecia que la mediana de CD4 es menor en los pacientes con coinfección VIH-TB (105 vs. 311). Por el contrario, la carga viral presenta mayores valores en el grupo de la coinfección y menores en los pacientes con solo VIH (403 vs. 112250).

Se expone también la relación probable entre poseer otras comorbilidades y el grupo al que pertenece el paciente, no encontrándose una asociación significativa.

Tabla 2. Características sociodemográficas según grupo de estudio (N=151).					
	Variables	GRUPO 1 59 (39.07%)	GRUPO 2 92 (60.93%)	TOTAL	p
Sexo					0.220±
	Femenino	6 (27.27)	16 (72.73)	22 (14.57)	
	Masculino	53 (41.09)	76 (58.91)	129 (85.43)	
Edad					0.712±
	18-29	20 (41.67)	28 (58.33)	48 (31.79)	
	30-44	26 (36.62)	45 (63.38)	71 (47.02)	
	45-59	9 (36.00)	16 (64.00)	25 (16.56)	
	>60	4 (57.14)	3 (42.86)	7 (4.64)	
Lugar de procedencia					0.925±
	Lima metropolitana	56 (39.16)	87 (60.84)	143 (94.70)	
	Provincia	3 (37.50)	5 (62.50)	8 (5.30)	
Nivel educativo					0.046±
	Sin educación	0	1 (100.00)	1 (0.60)	
	Primaria incompleta	0	3 (100.00)	3 (2.00)	
	Primaria completa	11 (68.75)	5 (31.25)	16 (10.70)	
	Secundaria incompleta	9 (56.25)	7 (43.75)	16 (10.70)	
	Secundaria completa	19 (35.19)	35 (64.81)	54 (36.20)	
	Técnico incompleto	1 (20.00)	4 (80.00)	5 (3.30)	
	Técnico completo	12 (42.86)	16 (57.14)	28 (18.70)	
	Universitario incompleto	2 (22.22)	7 (77.78)	9 (6.00)	
	Universitario completo	3 (18.75)	13 (81.25)	16 (10.70)	
	Otros	1 (100.00)	0	1 (0.60)	
Tipo de ocupación					0.440±
	Sin empleo	16 (48.48)	17 (51.52)	33 (22.00)	
	Dependiente	5 (21.74)	18 (78.26)	23 (15.33)	
	Independiente	31 (40.26)	46 (59.74)	77 (51.33)	
	Jubilado	0	1 (100.00)	1 (0.67)	
	Trabajo para familiar	0	1 (100.00)	1 (0.67)	
	Ama de casa	4 (44.44)	5 (55.56)	9 (6.00)	
	Estudiante	3 (50.00)	3 (50.00)	6 (4.00)	
Salario					0.113±
	0	18 (48.65)	19 (51.35)	37 (24.83)	
	<750	23 (41.07)	33 (58.93)	56 (37.58)	
	750-1500	17 (36.17)	30 (63.83)	47 (31.54)	
	1500-2500	0	6 (100.00)	6 (4.03)	
	>2500	0	3 (100.00)	3 (2.01)	
Material de vivienda					0.202±
	Sin hogar	1 (50.00)	1 (50.00)	2 (1.43)	
	Barro	3 (50.00)	3 (50.00)	6 (4.03)	
	Adobe	10 (62.50)	6 (37.50)	16 (10.74)	
	Madera	6 (54.55)	5 (45.45)	11 (7.38)	
	Ladrillo	38 (33.63)	75 (66.37)	113 (75.84)	

Luz	Otro	0	1 (100.00)	1 (0.67)	0.311 <sup>±</sup>
	No	4 (57.14)	3 (42.86)	7 (4.70)	
	Sí	54 (38.03)	88 (61.97)	142 (95.30)	
Agua					0.839 <sup>±</sup>
	No	5 (41.67)	7 (58.33)	12 (8.05)	
	Sí	53 (38.69)	84 (61.31)	137 (91.95)	
Consumo de alcohol					0.759 <sup>±</sup>
	No	57 (39.58)	87 (60.42)	144 (96.00)	
	Sí	2 (33.33)	4 (66.67)	6 (4.00)	
Consumo de drogas					0.526 <sup>±</sup>
	No	55 (38.73)	87 (61.27)	142 (94.67)	
	Sí	4 (50.00)	4 (50.00)	8 (5.33)	
±Prueba de Chi cuadrado					

<b>Tabla 3.</b> <b>Características clínicas según grupo de estudio (N=151).</b>				
<b>Variables</b>	<b>GRUPO 1 59 (39.07%)</b>	<b>GRUPO 2 92 (60.93%)</b>	<b>TOTAL</b>	<b>p</b>
<b>Tos seca</b>				0.202 <sup>±</sup>
No	37 (35.58)	67 (64.42)	104 (69.80)	
Sí	21 (46.67)	24 (53.33)	45 (30.20)	
<b>Tos con flema</b>				0.221 <sup>±</sup>
No	24 (33.80)	47 (66.20)	71 (47.65)	
Sí	34 (43.59)	44 (56.41)	78 (52.35)	
<b>Fiebre</b>				<b>0.001<sup>±</sup></b>
No	23 (27.06)	62 (72.94)	85 (57.05)	
Sí	35 (54.69)	29 (45.31)	64 (42.95)	
<b>Pérdida de peso</b>				<b>0.000<sup>±</sup></b>
No	9 (14.75)	52 (85.25)	61 (40.94)	
Sí	49 (55.68)	39 (44.32)	88 (59.06)	
<b>Hemoptisis</b>				<b>0.041<sup>±</sup></b>
No	49 (36.30)	86 (63.70)	135 (90.60)	
Sí	9 (64.29)	5 (35.71)	14 (9.40)	
<b>Disnea</b>				0.145 <sup>±</sup>
No	32 (34.41)	61 (65.59)	93 (62.42)	
Sí	26 (46.43)	30 (53.37)	56 (37.58)	
<b>Anorexia</b>				<b>0.002<sup>±</sup></b>
No	29 (29.90)	68 (44.23)	97 (65.10)	
Sí	29 (55.77)	23 (44.23)	52 (34.90)	
<b>Astenia</b>				<b>0.002<sup>±</sup></b>
No	21 (26.92)	57 (73.08)	78 (52.35)	
Sí	37 (52.11)	34 (47.89)	71 (47.65)	

<b>Dolor de espalda</b>				<b>0.002<sup>±</sup></b>
No	37 (32.17)	78 (67.83)	115 (77.18)	
Sí	21 (61.76)	13 (38.24)	34 (22.82)	
<b>Sudoración nocturna</b>				<b>0.000<sup>±</sup></b>
No	28 (27.45)	74 (72.55)	102 (68.46)	
Sí	30 (63.83)	17 (36.17)	47 (31.54)	
<b>Escalofríos</b>				<b>0.000<sup>±</sup></b>
No	26 (25.49)	76 (74.51)	102 (68.46)	
Sí	32 (68.09)	15 (31.91)	47 (31.54)	
<sup>±</sup> Prueba de Chi cuadrado				

<b>Tabla 4.</b> <b>Características microbiológicas en pacientes con coinfección TB-VIH</b> <b>(N=59)</b>	
<b>Variables</b>	<b>GRUPO 1 (%)</b>
<b>Tipo de tuberculosis</b>	
Pulmonar	40 (67.80)
Ganglionar	5 (8.47)
Multisistémica	3 (5.08)
Intestinal	3 (5.08)
Meníngea	3 (5.08)
Genital	1 (1.69)
Mixta	2 (3.38)
<b>Baciloscopía</b>	
Negativo	41 (69.49)
Positivo	18 (30.51)
<b>Cultivo Ogawa</b>	
Negativo	31 (52.54)
1-19 Colonias	4 (6.78)
1 cruz	7 (11.86)
2 cruces	4 (6.78)
3 cruces	11 (18.64)
<b>Cultivo MODS</b>	
Negativo	21 (36.21)
Positivo	15 (25.86)
<b>Sensibilidad</b>	
Sensible	18 (75.00)
Monorresistente	2 (8.33)
Multidrogorresistente	3 (12.50)

<b>Tabla 5.</b> <b>Resultados de la radiografía de tórax según grupo de estudio (N=151).</b>			
<b>Variable</b>	<b>GRUPO 1</b> <b>59 (39.07%)</b>	<b>GRUPO 2</b> <b>92 (60.93%)</b>	<b>P</b>
<b>Radiografía</b>			0.282 <sup>±</sup>
Normal	22 (55.00)	18 (45.00)	
Anormal	10 (71.43)	4 (28.57)	
±Prueba de Chi cuadrado			

<b>Tabla 6.</b> <b>Información sobre el estado VIH según grupo de estudio (N=151).</b>			
<b>Variables</b>	<b>GRUPO 1</b> <b>59 (39.07%)</b>	<b>GRUPO 2</b> <b>92 (60.93%)</b>	<b>P</b>
<b>Nivel de CD4</b>	105 (RIQ=214)	311 (RIQ=321)	<b>0.001<sup>¥</sup></b>
<b>Carga viral</b>	112250 (RIQ=396800)	403 (RIQ=128500)	<b>0.003<sup>¥</sup></b>
<b>Comorbilidades</b>			0.995 <sup>±</sup>
No	48 (39.34)	74 (60.66)	
Sí	11 (39.29)	17 (60.71)	
<b>TARV</b>			<b>0.000<sup>±</sup></b>
No	34 (59.65)	23 (40.35)	
Sí	25 (27.17)	67 (72.83)	
¥Prueba de U de Mann Whitney			
±Prueba de Chi cuadrado			

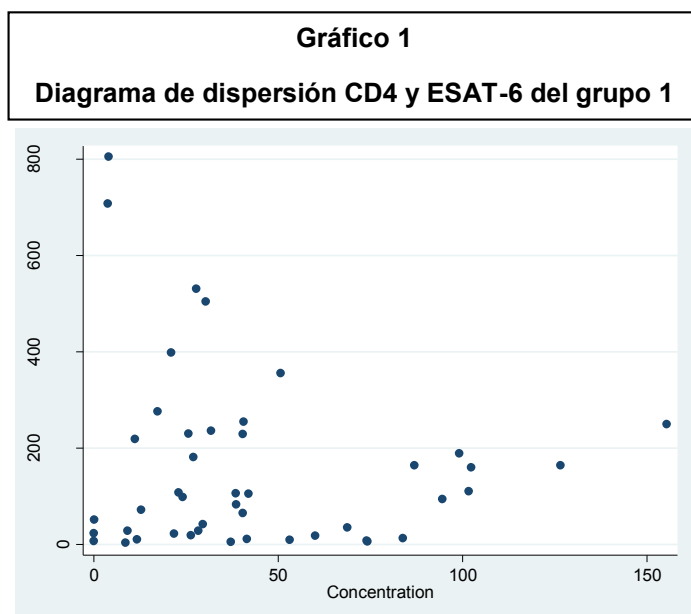
En cuanto a la tomar de terapia antirretroviral, se observó que la proporción de usuarios de estos medicamentos fue menor en el grupo VIH-TB (27%), y al realizarse la prueba de asociación con chi cuadrado, se encontró una relación estadísticamente significativa, por lo que ser usuario o no de TARV sí estaría asociado a pertenecer a uno de los grupos de estudio.

La tabla 7 presenta los resultados de la cuantificación en orina del antígeno ESAT-6. Se realizó una prueba de U de Mann Whitney, la cual no salió estadísticamente significativa ( $p=0.0667$ ), lo cual nos denota que no existiría asociación entre el nivel de ESAT-6 y el grupo de procedencia. También se expone la media de las concentraciones por grupo, encontrándose una mediana mayor en el grupo de solo VIH.

<b>Tabla 7.</b> <b>Cuantificación de ESAT-6 en orina, según grupo de estudio (N=151).</b>			
<b>Variable</b>	<b>GRUPO 1</b> <b>59 (39.07%)</b>	<b>GRUPO 2</b> <b>92 (60.93%)</b>	<b>P</b>
<b>ESAT-6</b>	16.13 (RIQ=33.27)	24.91 (RIQ=36.7)	0.0667 <sup>‡</sup>
<sup>‡</sup> Prueba de U de Mann Whitney			

Al respecto, se realizó un diagrama de dispersión, tal y como se muestran en la figura 1 y 2, para apreciar la distribución de la cantidad de antígeno en relación con el nivel de CD4 del paciente.

En el gráfico 1 se aprecia la distribución del ESAT-6 en el grupo 1 (VIH-TB), vemos que a menor cantidad de CD4 (<200), los valores de ESAT-6 son mayores.



En el gráfico 2 está representada la distribución del ESAT-6 en pacientes del grupo 2. Se aprecia que hay mayor concentración de valores pequeños de ESAT-6 a menor cantidad de CD4.

Sin embargo, al realizar la correlación de Spearman entre las dos variables continuas no existe una correlación positiva o negativa, lo cual indica que la

presencia de ESAT-6 es independiente del nivel de células CD4.

Finalmente, la tabla 8 presenta la asociación entre el nivel de CD4 categorizado de los pacientes y la cuantificación del antígeno ESAT-6 hallada en la orina. En la segunda columna se aprecia la mediana y el rango intercuartil del ESAT-6 según la categoría de CD4. Se observa que a medida que disminuye la inmunidad en el paciente, la cantidad de antígeno presente se eleva. Este resultado se condice con lo presentado en la figura 1.

Luego de este hallazgo, se procedió a realizar la prueba de Kruskal-Wallis. Se realizó esta prueba no paramétrica por tratarse de variables que no seguían una distribución normal. El análisis realizado en el programa Stata mostró que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la variabilidad de la cuantificación de antígeno, según el nivel de CD4 del paciente ( $p=0.2647$ ).

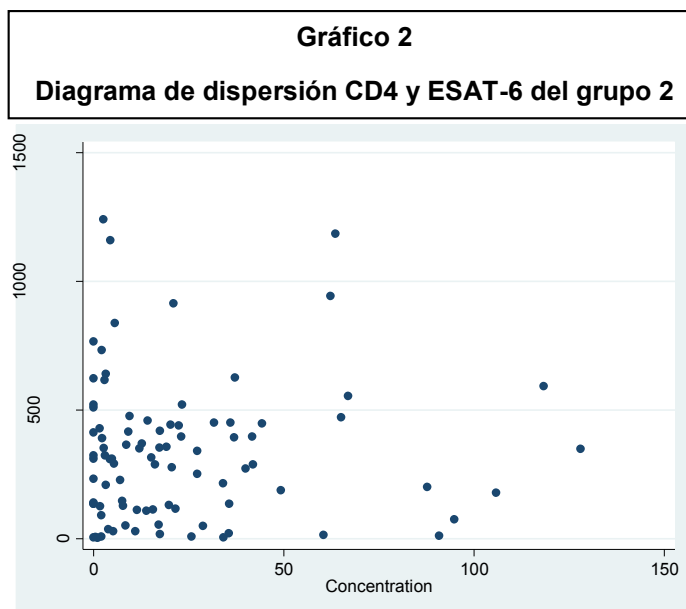


Tabla 8.		
Asociación entre nivel de CD4 y concentración de ESAT-6 en orina (N=135).		
Variables	Concentración de ESAT-6 en orina	
Nivel de CD4	p	
<100	25.71 (RIQ= 33.13)	41
100-199	22.97 (RIQ= 79.11)	23
200-299	26.45 (RIQ= 29.24)	18
300-399	13.985 (RIQ= 21.46)	20
> 400	14.27 (RIQ= 28.78)	33
*Prueba de Kruskal-Wallis		

### 3.2 Discusión

Este estudio muestra, dentro de las características sociodemográficas, una mayor proporción de varones en ambos grupos (85.43% del total), obteniéndose una proporción de 6:1 aproximadamente en relación al sexo femenino y un intervalo de edad de 30-44 años con mayor número de pacientes, seguido por el de jóvenes de 18 a 29 años. Esta información coincide con la presentada por la OMS en su último reporte, en el que indica que si bien la TB afecta a ambos sexos y a todos los grupos etarios, la carga más elevada se registra en los hombres y, considerando la edad, a los mayores de 15 años. (1)

En cuanto al nivel educativo, se observa que existe una relación significativa entre este y el grupo al que pertenecen los pacientes. En el grupo 1 existe menor proporción de personas en cada categoría con respecto al grupo 2. El mismo patrón se repite al analizar los datos de tipo de ocupación y salario: el 41% de pacientes del grupo 1, gana menos de 750 soles al mes e incluso, el resto de participantes no tienen un sueldo por encima de 1500, como sí sucede en el grupo 2. Asimismo, en cuanto al tipo de ocupación, la cantidad de participantes que labora de manera dependiente e independiente es menor en el grupo 1, con respecto al grupo 2. Esta información es similar a la encontrada por Saunders y colaboradores, quien en una cohorte realizada en nuestro país, observó que los factores de riesgo para padecer de TB fueron, entre otros, un nivel socioeconómico bajo y un bajo número de ventanas por habitación. (32)

Cabe añadir, que con respecto a la vivienda, en nuestro estudio el 75% del total de pacientes posee una vivienda con material de ladrillo, sin embargo, la proporción de estos según el grupo es menor en el grupo 1 que el grupo 2. Y en cuanto a los servicios básicos, más del 90% del total de pacientes contaba con agua y luz. Si bien esta información es de utilidad, es recomendable una evaluación adicional sobre el índice de hacinamiento en las viviendas, la ventilación y la contaminación del aire como factores asociados, tal y como se realizó en el estudio de Saunders ya mencionado.

En cuanto a la clínica, hay diversos signos y síntomas que han mostrado asociación con el grupo al que pertenecen los pacientes. En nuestro estudio, se resaltan en mayor proporción la fiebre y la pérdida de peso. Ambos tienen un número elevado de pacientes de ambos grupos, siendo mayor en el grupo de la coinfección. Estos datos clínicos se condicen con la revisión de Kelly A., en la que refiere que el diagnóstico de TB empieza observando el cortejo sintomático del paciente, que puede caracterizarse por síntomas generales, como fiebre, pérdida de peso o falta de apetito. (33) Tener en cuenta esta información es importante, ya que la OMS recomienda un examen regular a los pacientes con coinfección VIH-TB; y aunque haya estudios que sugieran a la tos como el signo más importante para el cribado, investigaciones en Camboya y Etiopía demostraron que la detección mediante 3 o más síntomas identifica de mejor manera a los pacientes con TB y VIH (55% vs 77%). (11)



En la misma línea, se muestran las características microbiológicas de los pacientes con coinfección. Se evidencia un alto porcentaje de TB pulmonar en el grupo 1 (67%), pero se muestra también los diversos casos de TB extrapulmonar y mixta. Además de ello, un 69% de baciloscopías resultaron negativas. En cuanto a los cultivos, un 44% y 25% tuvieron resultados positivos en el Ogawa y el MODS, respectivamente. Finalmente, de las muestras a las que se le pudo someter a estudios de sensibilidad, el 75% fueron sensibles al tratamiento antituberculoso, el 8% fueron monorresistentes y el 12%, multidorresistentes. Esta información se condice con lo mostrado por Reid y colaboradores, quienes refieren que los pacientes con VIH pueden presentar una alta tasa de TB extrapulmonar, así como TB pulmonar pero con baciloscopia negativa. (11) Asimismo, aunque esta prueba siga siendo recomendada por sus bajos costos y su rapidez, en pacientes con VIH solo detecta del 22-43% de enfermedad activa y en cuanto a los cultivos, los rendimientos más pobres de estos exámenes se observan en grupos de alto riesgo, como el de la coinfección, produciendo un falso negativo. (2,3)

Con respecto a la sensibilidad, a nivel mundial según la OMS, la TB MDR representa el 3.4% de los nuevos casos anualmente, proporción mayor en nuestro estudio dada nuestra menor cantidad de muestra. (1) Para poder obtener esta información necesitamos una baciloscopia positiva para realizar un genotype, un cultivo de más de 20 colonias para someter a la muestra a una prueba de sensibilidad por proporciones, y, en el caso del MODS, que la muestra sea esputo o biopsia de ganglio; muestra que, en los 3 casos, debe ser de una calidad y cantidad apropiadas. En nuestro estudio existió esta la limitación, puesto que no todos los pacientes entregaron una muestra de esputo satisfactoria, además cabe recordar que en los pacientes con coinfección es difícil la obtención de esputo y la mayoría son paucibacilares. (3,4)

En cuanto a los resultados presentados acerca de la radiografía de tórax, vemos que en total, solo 10 y 4 personas de cada grupo presentaron un hallazgo anormal. Esto se debe a que los pacientes con VIH no forman las cavitaciones clásicas de la enfermedad por TB, no generando los infiltrados característicos en la radiografía. A pesar de ello, con el advenimiento de la detección asistida por computadora en las radiografías digitales, esta tecnología se viene usando en diversos entornos como las cárceles, personas con contacto

TB en su vivienda y en trabajadores del sector minero, por lo que viene siendo recomendado por la OMS en su algoritmo diagnóstico para ciertas poblaciones. (34,35)

La tabla 6 muestra información laboratorial y clínica sobre los pacientes con VIH. Como se describió en los resultados, la mediana de CD4 fue menor en los pacientes del grupo 1, que se encontraban en fase SIDA. De manera inversa, la carga viral fue mayor en este grupo de pacientes. Ambas categorías tuvieron una asociación significativa estadísticamente al relacionarlas con el grupo de estudio ( $p=0.001$  y  $0.003$  respectivamente) mediante la prueba de U de Mann Whitney. Por otro lado, aunque la presencia de comorbilidades no tuvo asociación y fue un número similar en ambos grupos, el tomar terapia antirretroviral sí estuvo asociado significativamente, y el número mayor de pacientes adherentes se observó en el grupo 2. Esto se condice con el último reporte de la OMS, en el que se destaca que a nivel mundial el 56% de pacientes con TB eran VIH positivos y de estos, el 86% estaba en TARV, siendo esta un apoyo para las tasas de éxito en el tratamiento contra la tuberculosis. (1)

Con respecto al ESAT-6, la tabla 7 nos muestra la media de los valores del antígeno por cada grupo, relación no asociada significativamente, en la que se observa que en el grupo 2, que no tiene TB, existe mayor valor de ESAT-6. Este resultado difiere de lo mostrado en los gráficos de dispersión, donde se observa que a menor CD4 (grupo 1) los valores de ESAT-6 tienden a ser mayores. Al categorizar la variable CD4 y mostrar la mediana de valores del antígeno por cada una de estas categorías, se observa que esta relación inversa, ya evidenciada en los gráficos, permanece, dando como resultado que a menor cantidad de CD4, los valores del antígeno aumentan.

A pesar de este hallazgo descrito, en la última tabla se describe que no existe asociación estadísticamente significativa entre el valor de CD4 y la cuantificación de ESAT-6. Es decir, no podemos afirmar fehacientemente que exista una relación inversa entre estas dos variables, ya que no podemos demostrar que lo expuesto en los gráficos tenga relación con el azar.

Sin embargo, la revisión de la literatura nos muestra que sí habría una relación entre el ESAT-6 y el CD4. Revisiones como la de Martino M. y Barber D., muestran que el ESAT-6 no solo permite la subsistencia de la bacteria al inducir cambios en el fenotipo del macrófago, sino que, al interactuar con el Linfocito T CD4, disminuye la producción

de células de memoria y la respuesta a péptidos de reestimulación, logrando un “agotamiento funcional” de estas células, lo cual se traduce en una tolerancia periférica, el desarrollo de una función efectora deteriorada, dificultad para el control del patógeno, y finalmente, el incremento de las cargas bacterianas. (16,36)

Otros estudios acerca del comportamiento del ESAT-6 han seguido demostrando que la relación con las células T CD4 es diferente a la de los demás antígenos. Moguche y colaboradores hallaron que las células T CD4 específicas se mantuvieron en grandes cantidades debido a la estimulación dada por el antígeno, siendo la cantidad de células, que responden de esta manera, mayor en comparación a las estimuladas por otros antígenos. (17)

Así, la bibliografía nos indica que, aunque no está establecida ni cuantificada aun la asociación entre ambas variables, existe una relación fisiopatológica entre ambas, que convendría seguir investigando.

Del mismo modo, si bien no hubo una asociación entre la cuantificación de antígeno y el grupo asignado a los pacientes (con o sin TB), debemos mencionar que para determinar una asociación es necesario tener un punto de corte que nos permita delimitar el status de enfermo y no enfermo. Esto debe ser realizado mediante estudios de sensibilidad y especificidad de la prueba.

Finalmente, acerca de las limitaciones presentadas inicialmente, la principal estuvo relacionada con la colecta de la información sobre la cantidad de CD4. Así, se pudo recabar la cuantificación de 135 pacientes, quedando 16 sin un resultado que pudiera asociarse con su respectiva cantidad de ESAT-6. Sin embargo, consideramos que la falta de esta información no repercute en el resultado ya mostrado.

### **3.3 Conclusiones y Recomendaciones**

Dentro de las 5 categorías del CD4 evaluadas en este estudio y la cuantificación de ESAT-6 no se ha determinado una asociación estadística; sin embargo, se observó una mayor concentración de antígeno ESAT-6 (25.71 con RIQ=33.13) en el grupo de 100-199 células CD4.

Resultados preliminares del estudio principal muestran una mayor sensibilidad para detectar tuberculosis en los pacientes con un CD4 menor de 200 células/ml; no obstante,

la diferencia entre las categorías  $>200$  y  $<200$  células CD4 no es significativa, demostrándose la no asociación presentada en este estudio, con la posibilidad de que esta prueba diagnóstica pueda ser aplicada de manera independiente al nivel de CD4 de los pacientes.

Es por ello que sugerimos continuar con investigaciones en poblaciones más numerosas, y que se consideren análisis multivariados de los diversos factores que interactúan en los pacientes co infectados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. In: Global status report of tuberculosis [Internet]. 2019. p. 297. Available from: [www.who.int/tb/data](http://www.who.int/tb/data)
2. Pai M, Behr MA, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme CC, et al. Tuberculosis. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2016;2:16076. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrdp201676>
3. Sulis G, Centis R, Sotgiu G, D'Ambrosio L, Pontali E, Spanevello A, et al. Recent developments in the diagnosis and management of tuberculosis. *npj Prim Care Respir Med* [Internet]. 2016;26(1):16078. Available from: <http://www.nature.com/articles/npjpcrm201678>
4. Solari L, Gutierrez-Aguado A, Suarez C, Jave O, Castillo E, Yale G, et al. Análisis de costos de los métodos rápidos para diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente en diferentes grupos epidemiológicos del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2011;28(3):426–31.
5. WHO. Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary TB in Adults and Children: Policy update. *World Heal Organ*. 2013;1–79.
6. Getahun H, Harrington M, O'Brien R, Nunn P. Diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in people with HIV infection or AIDS in resource-constrained settings: informing urgent policy changes. *Lancet*. 2007;369(9578):2042–9.
7. Singh N, Sreenivas V, Gupta KB, Chaudhary A, Mittal A, Varma-Basil M, et al. Diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis based on detection of mycobacterial antigen 85B by immuno-PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83(4):359–64.
8. Mehta PK, Dahiya B, Sharma S. Immuno-PCR, a new technique for the serodiagnosis of tuberculosis. *J Microbiol Methods*. 2017;
9. Peter JG, Zijenah LS, Chanda D, Clowes P, Lesosky M, Gina P, et al. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: A pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10024):1187–97.
10. World Health Organization. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV: policy. 2015;1–74. Available from: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/193633>
11. Reid MJ, Shah NS. Approaches to tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV in resource-limited settings. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2009;9(3):173–84. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70043-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70043-X)

12. Mehta PK, Singh N, Dharra R, Dahiya B, Sharma S, Sheoran A, et al. Diagnosis of tuberculosis based on the detection of a cocktail of mycobacterial antigen 85B, ESAT-6 and cord factor by immuno-PCR. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2016;127:24–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.003>
13. Mehta PK, Singh N, Dharra R, Dahiya B, Sharma S, Sheoran A, et al. Serodiagnostic potential of immuno-PCR using a cocktail of mycobacterial antigen 85B, ESAT-6 and cord factor in tuberculosis patients. *J Microbiol Methods*. 2016;127:24–7.
14. Castro-Sesquen YE, Gilman RH, Galdos-Cardenas G, Ferrufino L, S?nchez G, Valencia Ayala E, et al. Use of a Novel Chagas Urine Nanoparticle Test (Chunap) for Diagnosis of Congenital Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(10):4–11.
15. Luchini A, Geho D, Barney B, Tran D, Xia C, Dufour R, et al. Smart Hydrogel Particles: Biomarker Harvesting: One-step affinity purification, size exclusion, and protection against degradation. *Nano Lett*. 2008;8(1):350–61.
16. Barber DL. The Helper T Cell's Dilemma in Tuberculosis. *Cell Host Microbe*. 2017;21(6):655–6.
17. Musvosvi M, Penn-nicholson A, Andersen P, Scriba TJ, Urdahl KB, Moguche AO, et al. Antigen Availability Shapes T Cell Differentiation and Function during Tuberculosis Antigen Availability Shapes T Cell. *Cell Host Microbe*. 2017;21(6):695-706.e5.
18. WHO. Global Tuberculosis Report 2016. 2016;(Global TB Report 2016):214. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title#0%0Ahttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+title%230>
19. Bos KI, Harkins KM, Herbig A, Coscolla M, Comas I, Forrest SA, et al. Replacing smear microscopy for the diagnosis of tuberculosis: what is the market potential? 2015;514(7523):494–7.
20. Reed MB, Domenech P, Manca C, Su H, Barczak AK, Kreiswirth BN, et al. A glycolipid of hypervirulent tuberculosis strains that inhibits the innate immune response. *Nature*. 2004;431(7004):84–7.
21. Abdallah AM, Gey van Pittius NC, Champion P a D, Cox J, Luirink J, Vandenbroucke-Grauls CMJE, et al. Type VII secretion--mycobacteria show the way. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5(11):883–91.
22. Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R, et al. Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death. *PLoS Pathog*. 2012;8(2).
23. Dipasquale D. Treatment of chronic Infection. *J Am Acad Orthop Surg*. 2006;14(10):105–10.
24. Lin PL, Ford CB, Coleman MT, Myers AJ, Ioerger T, Sacchettini J, et al.

- Sterilization of granulomas is common in both active and latent tuberculosis despite extensive within-host variability in bacterial killing. *Nat Med*. 2014;20(1):75–9.
25. Pai M, Denkinger CM, Kik S V., Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):3–20.
  26. Triccas JA, Counoupas C. Novel vaccination approaches to prevent tuberculosis in children. *Pneumonia*. 2016;8(1):18.
  27. Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, Steingart KR, Menzies D, Schiller I, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2015;3(6):451–61. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00095-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00095-8)
  28. Masood KI, Hussain R, Rao N, Rottenberg ME, Salahuddin N, Irfan M, et al. Differential Early Secreted Antigen Target (ESAT) 6 kDa-induced IFN- $\gamma$  and SOCS1 expression distinguishes latent and active tuberculosis. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(1):59–66.
  29. Tang XL, Zhou YX, Wu SM, Pan Q, Xia B, Zhang XL. CFP10 and ESAT6 aptamers as effective *Mycobacterial* antigen diagnostic reagents. *J Infect* [Internet]. 2014;69(6):569–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2014.05.015>
  30. Mukundan H, Kumar S, Price DN, Ray SM, Lee YJ, Min S, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* biomarkers in a sandwich immunoassay format using a waveguide-based optical biosensor. *Tuberculosis*. 2012;92(5):407–16.
  31. Flores LL, Steingart KR, Dendukuri N, Schiller I, Minion J, Pai M, et al. Systematic review and meta-analysis of antigen detection tests for the diagnosis of tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(10):1616–27.
  32. Saunders MJ, Wingfield T, Tovar MA, Baldwin MR, Datta S, Zevallos K, et al. A score to predict and stratify risk of tuberculosis in adult contacts of tuberculosis index cases : a prospective derivation and external validation cohort study. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2017;17(11):1190–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30447-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30447-4)
  33. Kelly AM. Tuberculosis. *Nurs Clin North Am*. 2019;54(2):193–205.
  34. Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. *Lancet*. 2019;393(10181):1642–56.
  35. WHO. Chest Radiography in tuberculosis detection. 2016;44.
  36. De Martino M, Lodi L, Galli L, Chiappini E. Immune Response to *Mycobacterium tuberculosis*: A Narrative Review. *Front Pediatr*. 2019;7(August):1–8.

## ANEXOS

### ANEXO N° 1

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

CÓDIGO		
GR UP	GRUPO 1 (VIH+TB+)	
	GRUPO 2 (VIH+TB-)	
N° DE HISTORIA CLÍNICA		
FECHA DE ENTREVISTA		
MIEMBRO DEL EQUIPO DE ESTUDIO		

**\*DIAGNÓSTICO DE PACIENTE HOSPITALIZADO:** \_\_\_\_\_

#### **I. DATOS SOCIOECONÓMICOS Y DEMOGRÁFICOS DEL PACIENTE:**

##### **A. FILIACIÓN:**

1. \_\_\_\_\_ **NOMBRE:**

2. SEXO: (1) F (2) M

3. FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_ 4. EDAD: \_\_\_\_\_

5. DEPARTAMENTO DE PROCEDENCIA: \_\_\_\_\_

6. DISTRITO DE PROCEDENCIA: \_\_\_\_\_

##### **7. INGRESO MENSUAL DEL HOGAR:**

Menos de 750 soles=01

750-1500=02

1500-2500=03

Más de 2500 soles=04

##### **8. GRADO DE INSTRUCCIÓN:**

Analfabeto=00

Primaria=01

Secundaria=02

Técnico=03

Superior=04



## II. INFORMACIÓN CLÍNICA Y LABORATORIAL DEL PACIENTE:

### A. VIIH:

#### 1. DIAGNÓSTICO PREVIO:

(1) NO

(2) SÍ 1.1. Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_

1.2. Método de diagnóstico: \_\_\_\_\_

#### 2. ¿RECIBE TRATAMIENTO (TARGA)?

(1) NO

(2) SÍ 2.1. ¿Cuál es su tratamiento? \_\_\_\_\_

2.2. ¿Hace cuánto tiempo lo toma? \_\_\_\_\_

2.3. ¿Dónde lo toma? \_\_\_\_\_

### B. SEGUIMIENTO:

ÍTEM	± 3 MESES DE VISITA 1 (Basal)	
1. CARGA VIRAL	a.	Fecha: _____
	b.	Conteo: _____
	(1)	Indetectable
	(2)	41-1000 copias
	(3)	1 000-10 000 copias
	(4)	10 000-25 000 copias
	(5)	25 000-75 000
	(6)	>75 000
2. NIVEL DE CD4	c.	Fecha: _____
	d.	Conteo: _____
	(1)	<50
	(2)	50 -200
	(3)	200-500
	(4)	>500

### C. DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS:

#### 1. DIAGNÓSTICO MEDIANTE BACILOSCOPIA Y MODS

Muestra 1	
Fecha de colecta: _____	
<b>Baciloscopia</b>	
a.	Neg
b.	Post +
(3)	Post++
(4)	Post +++
(5)	Paucibacilar (1-10 bacilos)
<b>MODS - Fecha de resultado:</b> _____	
(1)	Neg
(2)	Post
-Isoniacida 0.4 ug/ml	(S) (R)
-Rifampicina 1ug/ml	(S) (R)
<b>OGAWA - Fecha de resultado:</b> _____	
a.	Neg
b.	Post +
c.	Post ++
d.	Post +++
e.	Menor a 20 colonias

#### 2. RESULTADO DE LA RADIOGRAFÍA DE TÓRAX:

Registro del informe:

_____
_____
_____
_____
_____

(1)	Compromiso cavitario de 1 pulmón
(2)	Compromiso cavitario de 2 pulmones
(3)	Infiltrado de 1 pulmón
(4)	Infiltrado de 2 pulmones
(5)	Ausencia de alteraciones

#### 3. TIPO DE TUBERCULOSIS:

(1) Pulmonar

(2) Extrapulmonar (localización y forma de diagnóstico):

2.1. Localización:

\_\_\_\_\_

2.2. Forma de diagnóstico: \_\_\_\_\_

2.3 Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_

### III. INVESTIGACIÓN:

#### A. ANTÍGENO ESAT-6:

<b>Detección de antígenos TB en orina</b>	(SDS page):	(1) Positivo	(2) Negativo
	(ELISA):	(1) Positivo	(2) Negativo

a. CUANTIFICACIÓN DE ESAT-6: \_\_\_\_\_

## ANEXO N° 2



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Instituto de Gestión de  
Servicios de Salud

Hospital Nacional  
Dos de Mayo

"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

### **OFICIO N° 011-2017-CEIB-EI-OACDI-HNDM**

Lima, 02 de marzo 2017

Doctora:  
LUZ HUAROTO VALDIVIA  
Presente.-

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA  
HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO

UN NOVEDOSO METODO DE DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS ACTIVA EN ORINA MEDIANTE LA DETECCION DE ANTIGENO ESAT-6 UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE HIDROGEL EN PACIENTES CON COINFECCION VIH

Es muy grato dirigirme a Ud. para saludarle y manifestarle que el Comité de Ética en Investigación biomédica revisó y aprobó los siguientes documentos del estudio de la referencia:

- Protocolo Versión 23 de Enero del 2017
- Formulario de consentimiento informado para participar en un estudio de investigación (versión 23 de enero del 2017)
- Formulario de consentimiento informado para participar en un estudio de investigación, participante grupo 01,02 y 03 (versión 23 de enero del 2017)
- Formulario de consentimiento informado para participar en un estudio de investigación, participante control (versión 23 de enero del 2017)

Atentamente,



Ministerio de Salud  
Hospital Nacional "Dos de Mayo"  
Dr.: Jorge A. YARINSUECA GUTIERREZ  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA  
EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

JAYG\*PCEIB\*LNBC/HNDM

C.c. Archivo

[www.minsa.gob.pe/h2demayo](http://www.minsa.gob.pe/h2demayo)  
[hdosdemayo@minsa.gob.pe](mailto:hdosdemayo@minsa.gob.pe)  
[hdosdemayo@hotmail.com](mailto:hdosdemayo@hotmail.com)

Parque Historia de la  
Medicina Peruana s/n  
Cercado de Lima  
Tlf. 328-00-28, 328-00-35  
RUC: 20160388570

## ANEXO N° 3



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital Nacional  
Dos de Mayo

"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

### CARTA N° 073 – 2017 – OACDI – HNDM

Lima, 13 de setiembre 2017

Estudiante:

**ROCA ZELA MARINELLY JAYE**

Investigadora Principal

Presente.-

ASUNTO : AUTORIZACIÓN Y APROBACIÓN PARA REALIZAR ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

REF. : REGISTRO N° 013308

De mi mayor consideración,

Es grato dirigirme a usted para saludarle cordialmente y al mismo tiempo comunicarle que con memorándum N° 688-2017-DEM-HNDM el Departamento de Especialidades Médicas, informa que no existe ningún inconveniente en que se desarrolle el trabajo de investigación titulado:

#### **"ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DEL ANTÍGENO ESAT-6 EN ORINA MEDIANTE EL USO DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROGEL Y EL NIVEL DE CD4 EN PACIENTES CON CO INFECCIÓN VIH Y TUBERCULOSIS"**

En tal sentido esta oficina autoriza la realización del estudio de investigación. Consecuentemente el investigador deberá cumplir con el compromiso firmado, mantener comunicación continua sobre el desarrollo del trabajo y remitir una copia del proyecto al concluirse.

La presente aprobación tiene vigencia a partir de la fecha y **expira el 12 de setiembre del 2018.**

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Sin otro particular, me despido de usted.

Atentamente

MINISTERIO DE SALUD  
HOSPITAL NACIONAL "DOS DE MAYO"  
Dr. JOHNNY ALVARO MORZAN DELGADO  
C.M.P. 19974 / E.O. 19950  
Jefe de la Oficina de Apoyo a la Capacitación,  
Dirección de Investigación

Carta N° 093- EI

JRMID/LNBC/Inyc

[www.minsa.gob.pe/h2demayo](http://www.minsa.gob.pe/h2demayo)  
[hdosdemayo@minsa.gob.pe](mailto:hdosdemayo@minsa.gob.pe)  
[hdosdemayo@hotmail.com](mailto:hdosdemayo@hotmail.com)

Parque Historia de la Medicina  
Peruana s/n, Cercado de Lima  
Tel. 328-00-28, 328-00-35  
RUC: 20160388570

## ANEXO N° 4



### ACUERDO DE USO DE UNA BASE DE DATOS PARA UN ANÁLISIS SECUNDARIO QUE SIRVA DE TESIS DE PREGRADO PARA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

Dentro de la formación del estudiante de Medicina en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se viene incidiendo en la adquisición de capacidades en el campo de la investigación. Así, como parte de las actividades curriculares se brinda la opción del desarrollo de una tesis que permita obtener el grado de Licenciatura en Medicina, lo cual implica la publicación de este producto de investigación como primer autor en una revista científica.

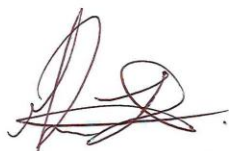
Para este fin, se deja a elección del tesista la elección de la metodología y el tipo de estudio que realizará, por lo que se incluye como opción el análisis secundario de una base de datos preexistente, lo cual requiere el consentimiento del investigador principal y el conocimiento del asesor de tesis sobre la metodología a desarrollar.

En ese sentido, el presente documento tiene como finalidad normativizar el uso de una base de datos provista por un equipo de investigación externo (INVESTIGADOR) como fuente para un análisis secundario de datos y publicación por parte de un alumno de la Facultad (TESISTA DE PREGRADO).

1. El INVESTIGADOR remitirá la base de datos a la TESISTA en el formato que estime conveniente.
2. El uso de la base de datos se limitará a la pregunta de investigación propuesta y aprobada como Tesis por parte de la Facultad. Al respecto, el TESISTA informará al menos en dos oportunidades por ciclo al INVESTIGADOR.
3. El INVESTIGADOR deberá informar al TESISTA acerca del estudio primario al que corresponde la base de datos y le brindará el protocolo, consentimiento y formatos utilizados para solicitar la aprobación de la propuesta de tesis en el Comité de Ética del Hospital Nacional Dos de Mayo.
4. El INVESTIGADOR deberá informar al TESISTA acerca de los análisis que ya han sido realizados con la base de datos respondiendo al estudio primario, así como, otros análisis que hayan sido objeto de publicación. Adicionalmente, puede mencionar si existen análisis en curso o futuros que vayan a ser publicados para que no haya duplicidad.
5. El TESISTA no podrá presentar como su propuesta de tesis un análisis similar o que responda a los mismos objetivos propios del estudio principal, salvo aprobación expresa del INVESTIGADOR.
6. El INVESTIGADOR podrá solicitar un informe en los periodos que crea conveniente acerca del estado de análisis en que se encuentra su base, adicionalmente a los reportes por ciclo pactados en el acápite 2. El TESISTA debe responder a la solicitud del INVESTIGADOR en un plazo máximo de 72 horas por vía electrónica, telefónica o presencial.
7. Los resultados obtenidos del análisis servirán para el desarrollo de la tesis del TESISTA, lo que implica una publicación científica en una revista internacional indizada donde el TESISTA será primer autor junto con co-autores designados por el INVESTIGADOR que hayan participado en el estudio y en la elaboración del artículo.
8. En el artículo publicado se especificará que el estudio es la tesis de Pregrado del TESISTA y que la base de datos pertenece al INVESTIGADOR, mencionando asimismo, el estudio primario al que pertenece.

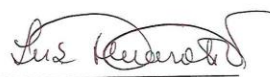
Mediante la presente el INVESTIGADOR y el TESISTA, firman un acuerdo colaborativo bajo los términos arriba expuestos. Asimismo, firma el Dr. Eduardo Ticona Chávez, asesor de la tesista de pregrado y sub investigador de la investigación principal, tomando conocimiento de este acuerdo.

Lima, 15 de agosto del 2017.



**Marinelly Jaye Roca Zela**

TESISTA



**Luz María Huaroto Valdivia**

INVESTIGADOR



**Eduardo Rómulo Ticona Chávez**

ASESOR DE TESIS - SUBINVESTIGADOR